

**Elektronenmikroskopische Untersuchungen
an Antheridien
von Polypodium crassifolium
und Anemia phyllitidis**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Fachbereich Biologie)**

**vorgelegt von
Ursula Richter
aus Komotau**

Gießen 1972

**Elektronenmikroskopische Untersuchungen
an Antheridien
von *Polypodium crassifolium*
und *Anemia phyllitidis***

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Fachbereich Biologie)

vorgelegt von
Ursula Richter
aus Komotau

Gießen 1972



D 26

Dekan: Prof. Dr. W. Lueken

I. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Schraudolf

II. Berichterstatter: Prof. Dr. D. von Denffer

Tag der mündlichen Prüfung: 8. November 1972

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Material und Methoden	6
1.) Polypodium crassifolium	
2.) Anemia phyllitidis	
III. Ergebnisse	9
1.) Polypodium crassifolium: Untersuchung des Zellwandmusters des Polypodiaceen- Antheridiums	9
2.) Anemia phyllitidis: Untersuchungen zur Antheridienbildung	11
a) Telophasen in der Spitzenzelle des Prothalliums	11
b) Bildung der Glockenzelle Prophase, Metaphase, Anaphase, Telophase	13
c) Bildung der Stielzelle Prophase, Metaphase, Anaphase, Telophase	15
d) Musterbildung	16
e) Organelle	17
Plastiden	17
Ribosomen und Endoplasmatisches Retikulum (ER)	18
Vakuolen	19
Golgiapparat	19
"Lomasomen" und Einschlüsse im Bereich der Zellwand	19
Vesikelgruppen	20
Weitere Organelle	20
Plasmodesmen, Lipidtropfen, multi- vesikuläre Körper, coated vesicles, microbodies	
IV. Diskussion	22
V. Zusammenfassung	38
VI. Literaturverzeichnis	39

I. Einleitung

Bei der Bildung der Farnantheridien laufen mehrere Zellteilungen ab, die in strenger Gesetzmäßigkeit aufeinander folgen. Doch sind die dabei entstehenden Zellmuster nicht bei allen Farnen gleich, sondern zeigen zum Teil ganz erhebliche Unterschiede nicht nur in der Anatomie des Antheridiums, sondern auch in der Teilungssequenz, die zum Muster führt.

Wohl hauptsächlich wegen der ungewöhnlichen Wandbildungen sind die Vorgänge während der Antheridienbildung schon seit über hundert Jahren Gegenstand lichtmikroskopischer Untersuchungen, wobei von den einzelnen Autoren häufig voneinander abweichende Anschauungen entwickelt worden sind. So beschrieb Kny 1869 den Aufbau der jungen Antheridienanlage von *Anemia hirta* und deren Weiterentwicklung bis zum Verlauf der Spermatozoidfreisetzung. Nach dieser Beschreibung geht das Antheridium durch mehrere Teilungen aus einer einzigen Zelle hervor: zunächst wird basal eine Stielzelle abgegliedert; dann entsteht - und dabei handelt es sich um eine Besonderheit dieser Antheridienform - eine kuppelförmige Wand, die der Stielzelle aufsitzt und eine Zentralzelle von der sie nach außen begrenzenden Glockenzelle trennt (Abb. I).

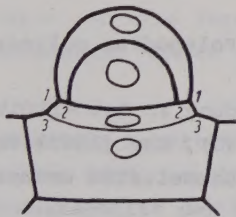


Abb. I: Junges Antheridium von *Anemia phyllitidis* (aus Schraudolf 1969). Wandbildungsfolge nach Schraudolf. Nach Kny werden die Wände in der Reihenfolge 3-1-2 angelegt.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung teilt sich die Glockenzelle noch in Ring- und Deckelzelle, wobei die Wand zwischen diesen beiden Zellen trichterförmig angelegt wird.

Zahlreiche Darstellungen der Antheridienentwicklung gehen auf diese Untersuchung von Kny zurück (so z.B. Sadebeck 1902).

Auch in neuerer Zeit ist ein entsprechender Ablauf der Musterbildung von Stone (1962) bei von ihr untersuchten Farnen beschrieben worden. Erst in jüngster Zeit konnte Schraudolf (1963) für *Anemia phyllitidis* zeigen, daß die Stielzelle nicht von der Antheridieninitiale abgegliedert wird, sondern eine Bildung der vegetativen Zelle ist, der die Initiale aufsitzt (s. Abb. I). Damit bestätigte er eine Feststellung Goebels (1930), der schrieb: "Der "Stiel", den manche Antheridien besitzen, entspricht einem Auswuchs des Prothalliums".

Das Antheridium der Polypodiaceen unterscheidet sich deutlich von der soeben beschriebenen Antheridienform durch das Fehlen einer Stielzelle und durch eine zusätzliche Ringzelle. Charakteristisch ist hier der Besitz einer trichterförmigen Zellwand, die die Zentralzelle von der unteren Ringzelle trennt (Abb. II).



Abb. II: Antheridium von *Polypodium polycarpon* (aus Schraudolf 1968).

Diese eigenartige Wandbildung im Antheridium der Polypodiaceen beschrieb Strasburger (1880); Kny (1869) fand sie bei *Asplenium alatum*, bei dem auch die Deckelzelle entsprechend angelegt sein soll.

Doch ist eine trichterförmig angelegte Zellwand bei Farnen nicht auf das Antheridium beschränkt, sondern konnte auch bei der Anlage der Spaltöffnungen von *Anemia fraxinifolia* beobachtet werden (Strasburger 1880).

In neuerer Zeit berichten Mickel und Lersten (1967) und Humbert und Guyot (1969) über derartige "floating" oder "acétostome" Farnstomata.

Da eine trichterförmig angelegte Zellwand eine Besonderheit im Verlauf der Cytokinese darstellt, ist es nicht erstaunlich, daß Davie (1951) anhand seiner Untersuchungen über die Entwicklung des Antheridiums der Polypodiaceen zu dem Schluß kommt, daß die trichterförmige Innenwand der Ringzelle nicht von Anfang an in dieser Form besteht, sondern daß eine zunächst transversal angelegte Wand durch den zunehmenden Druck des sich entwickelnden spermatogenen Gewebes in Richtung auf die Basalzellwand hin gedrängt wird, bis ein Kontakt zwischen beiden Wänden hergestellt worden ist. In entsprechender Weise sollen die obere Wand der Zentralzelle und die der Deckelzelle miteinander in Berührung kommen. Das würde bedeuten, daß diese Wandform eine sekundäre Bildung ist, bewirkt allein durch die Turgeszenz einer Zelle bzw. eines Gewebes.

Gegen diese Darstellung der Antheridienentwicklung wenden sich Stone (1962) und Schraudolf (1968), die bei den von ihnen untersuchten Farnen feststellen, daß eine trichterförmige Wand als solche angelegt wird und nicht eine im Verlauf der Entwicklung eintretende Veränderung einer ursprünglich normal angelegten transversalen Wand darstellt. Sollten diese Beobachtungen zutreffen, müßte der Wandabschnitt der Basalwand, der vom "Trichterende" eingeschlossen wird, das übliche Bild einer Zellwand bieten. Sofern aber Davie's Theorie einer Sekundärbildung korrekt wäre, müßten eine doppelte Zellwand oder doch wenigstens Hinweise auf eine Verschmelzung von zwei ursprünglich separat angelegten Wänden in diesem Bereich festzustellen sein.

Da in allen bisher genannten Arbeiten lichtmikroskopische Ergebnisse referiert worden sind, erschien es von Interesse, den entscheidenden Wandabschnitt der Basalwand des Antheridiums, der von der trichterförmigen Zellwand umschlossen wird, elektronenmikroskopisch zu untersuchen. Dabei sollte geprüft werden, ob es möglich ist, von Antheridien, deren Entwicklung schon fortgeschritten ist, Hinweise auf die Entstehung der trichterförmigen Innenwand der Ringzelle zu erhalten. Erleichternd wirkte sich auf die Untersuchung aus, daß die Antheridienbildung von *Polypodium crassifolium* durch Anzucht im Dauerdunkelrot ausgelöst werden kann (Schraudolf 1967).

Die zweite in dieser Arbeit zu untersuchende Frage galt den Frühstadien der Antheridienentwicklung von *Anemia phyllitidis*. Die Bildung der Antheridien kann hier bereits im wenigzelligen Prothallium durch Zugabe von Gibberellinen zum Keimmedium ausgelöst werden, da letztere das native Schizaceenantheridiogen zu ersetzen vermögen (Schraudolf 1962). Da zudem eine enge Beziehung zwischen Hormonkonzentration und physiologischem Alter der Prothallien zum Zeitpunkt der Antheridienbildung besteht und so mit großer Sicherheit vorauszusagen ist, bei welcher Zellzahl des Prothalliums ein Antheridium gebildet werden wird (Schraudolf 1966), schienen von dieser technischen Seite her keine Schwierigkeiten für die Untersuchung zu bestehen. Lichtmikroskopische Untersuchungen hatten gezeigt, daß die Antheridieninitiale ein auffallend dichtes Plasma besitzt und sich mit Karminessigsäure wesentlich stärker als die vegetativen Zellen des Prothalliums anfärbt. Damit stellte sich die Frage, ob diesem lichtmikroskopisch feststellbaren unterschiedlichen Verhalten auch elektronenmikroskopisch erkennbare Unterschiede zugeordnet werden können. Entsprechende Beobachtungen wären zumindest Hinweise auf Vorgänge, die im Zusammenhang mit den bisher weitgehend unbekannten Differenzierungsprozessen im Verlauf dieser inäqualen Zellteilung stehen.

Asymmetrische (inäquale) Teilungen waren schon mehrmals Objekt elektronenmikroskopischer Untersuchungen. So verfolgten Pickett-Heaps und Northcote (1966 b) die Bildung des Stomakomplexes bei Weizen. Sanger und Jackson (1971) befaßten sich mit der Entstehung der vegetativen und der generativen Zelle im Pollen von *Haemanthus katherinae* Baker. Dabei war es möglich, im Zusammenhang mit einem derartigen asymmetrischen Teilungsverlauf Organellenverlagerungen bzw. Organellenverlagerungen und die Ausbildung eines Präprophasebandes nachzuweisen.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollte daher überprüft werden, ob bei den asymmetrischen Teilungen, die zur Bildung des Antheridiums führen, entsprechende Vorgänge zu beobachten sind.

Zwar waren Farnantheridien bereits Gegenstand einiger elektronenmikroskopischer Untersuchungen, doch betrafen diese nicht die frühen Entwicklungsstadien, sondern galten der zur Spermatozoidbildung führenden Entwicklung der Zentralzelle bzw. dem ausgebildeten Spermatozoid selbst (Manton 1959, Vazart 1964, Tourte Hurel-Py 1967, Bell et al. 1971, Mizukami, Gall 1966) und den Veränderungen, denen dieses beim Eintritt in das Archegonium unterworfen wird (Tourte 1971, Duckett, Bell 1971).

Daher erschien es auch sinnvoll, neben der Beobachtung von Frühstadien der Antheridienentwicklung den Ablauf der Musterbildung nochmals - und zwar elektronenoptisch - zu prüfen. Die Untersuchung der Antheridienanlagen erwies sich dabei als äußerst mühsam, da es bislang noch nicht gelungen ist, die Zellteilungen einer Prothallienpopulation zu synchronisieren und da außerdem die einzelnen Mitosestadien verschieden schnell ablaufen. So standen der Erfassung der verschiedenen Entwicklungsstadien erhebliche methodische Schwierigkeiten entgegen.

II. Material und Methoden

1.) Polypodium crassifolium

Sporen von *Polypodium crassifolium* aus dem Gewächshaus des Botanischen Institutes Gießen wurden direkt nach der Ernte auf Mohr'scher Lösung im Dauerdunkelrot zur Keimung und Antheridienbildung gebracht (Schraudolf 1968). Sobald eine genügend große Anzahl von Antheridien gebildet worden war, wurden die Prothallien nach 2 Std. Aufenthalt im Tageslicht abfiltriert und in 5%igem Glutaraldehyd in Phosphatpuffer (pH 6,9 - 7,0, 0,1M), der CaCl_2 enthielt, bei Raumtemperatur 2h fixiert. Danach wurden die Prothallien abzentrifugiert und mehrmals in Phosphatpuffer (Saccharosegehalt 0,2M) gewaschen. Zur Nachfixierung, die im Kälteraum durchgeführt wurde, kamen die Prothallien in 1%iges OsO_4 (nach Caulfield). Nach einer Stunde wurde abzentrifugiert, in aqua dest. ausgewaschen und in 1%igen Agar eingebettet. Nach der Entwässerung in einer Alkoholreihe steigender Alkoholkonzentration (nach dem Aufenthalt in 70%igem Alkohol wurden die Prothallien wieder in Raumtemperatur überführt) und der Infiltration mit dem Einbettungsmittel ERL-4206 (Spurr 1969) wurden die Prothallien in LKB-Kapseln, die bereits flüssiges Epoxharz enthielten, eingebracht und bei 70°C polymerisiert. Nach dem Polymerisieren wurden die Blöckchen so angespitzt, daß jeweils ein Antheridium längs geschnitten werden konnte. Zum Schneiden am Ultratome III von LKB dienten Glasmesser (am LKB-Knifemaker gebrochen). Die Schnitte wurden auf mit Formvar befilmten Kupfernetzen aufgefangen, mit 2%igem wässrigem Uranylacetat und mit Bleicitrat (Venable & Coggeshall 1965) kontrastiert und im EM 300 von Philips untersucht.

2.) Anemia phyllitidis

Sporen von *Anemia phyllitidis* wurden auf einer Nährlösung ausgesät,

die pro Liter 0,25g MgSO_4

0,25g KH_2PO_4

Spur Eisenkomplex

enthielt (nach Schraudolf, 1968 noch unveröffentlicht, aber ohne Nitratzugabe nach erfolgter Keimung).

Die verwendete Gibberellinsäurekonzentration (Gibb. A3 von der Firma Fluka) betrug 5×10^{-5} g/ml. Die Anzucht der Prothallien erfolgte im Dauerlicht (Schraudolf 1962). Wenn die Glockenzellbildung in einem ausreichenden Teil der Spitzenzellen begonnen hatte, wurden die Prothallien abzentrifugiert und wie die Prothallien von *Polypodium crassifolium* weiterbehandelt (sukzedanfixiert) mit dem Unterschied, daß nicht Phosphat- sondern Cacodylatpuffer verwendet und zur Nachfixierung eine 2%ige OsO_4 -Lösung in Cacodylpuffer verwendet wurde.

Einige Abbildungen dieser Arbeit stammen von Prothallien, die simultan (Franke et al. 1969) fixiert worden sind. Trotz des zufriedenstellenden Gesamteindrucks (z.B. Abb. 14, 20) zeigt das Plasmalemma häufig Unterbrechungen, und die Vesikel der jungen Zellplatte erscheinen meist geöffnet (Vergleich Abb. 51, simultan fixiert, mit Abb. 50). Auch die Erhaltung der Plastiden ist bei Simultanfixierung oft weniger gut als bei einer von OsO_4 gefolgt Glutaraldehydfixierung. Mit Erstgenannter wirken die Kerne - obwohl sie eine Innenstrukturierung aufweisen - äußerst kontrastarm. Es ist nicht möglich, Teilungsstadien wie Meta- und Anaphase zu identifizieren, auch wenn das Aussehen des Kernbereichs diesen Schluß nahelegt, da Chromosomen nicht sichtbar gemacht werden können. Doch ist zu bemerken, daß die Kernhülle wie auch die Nukleoli stets sehr gut erhalten sind. Nur in den Prothallien, die zuerst mit Glutaraldehyd fixiert und mit OsO_4 nachfixiert worden sind, können Mikrotubuli beobachtet werden. Doch ist andererseits darauf hinzuweisen, daß microbodies mit Simultanfixierung wesentlich stärker kontrastiert erscheinen. Auch werden bei derartig fixierten Zellen - im Gegensatz zur sukzedan erfolgten Fixierung - häufiger Polysomen beobachtet. Membranöse Strukturen in der Vakuole, wie sie Abb. 45 zeigt, sind in diesen Zellen nicht zu finden.

Insgesamt bieten die Zellen mit aufeinanderfolgender Glutaraldehyd- OsO_4 -Fixierung das von elektronenmikroskopischen Aufnahmen her gewohntere Bild. Dazu tragen das Aussehen des Kernes, die Sichtbarmachung der Chromosomen und der Mikrotubuli wesentlich bei.

Allgemein ist zu sagen, daß die Prothallien nicht leicht zu fixieren sind, wahrscheinlich, weil die wenigen Zellen, aus denen sie bestehen, hinsichtlich ihrer Struktur und Funktion sehr verschieden sind. Außerdem scheinen einzelne Entwicklungsstadien fixierungsstabiler als andere zu sein. So kommt es immer wieder vor, daß Zellen geschrumpft oder leicht plasmolysiert sind.

Ein Teil der abgebildeten Anemiazellen (simultan fixiert) wurde in Durcupan ACM von Fluka eingebettet. Schnitte in diesem Einbettungsmittel sind besser zu kontrastieren als solche in ERL-4206. Letzteres ist aber angenehmer zu handhaben.

III. Ergebnisse

1.) Polypodium crassifolium: Untersuchung des Zellwandmusters des Polypodiaceen-Antheridiums

Die Entwicklung der trichterförmigen Zellwand, die die untere Ringzelle von der späteren Zentralzelle trennt, gibt Abb. III A - D wieder (aus Schraudolf 1968):

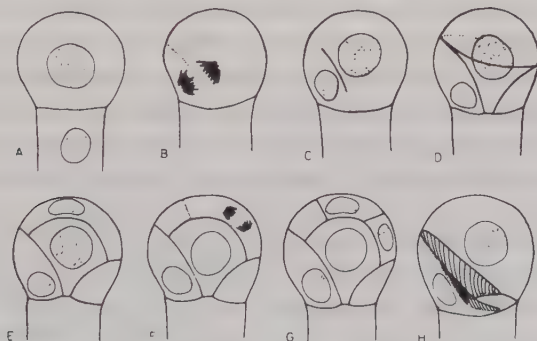


Abb. III: A - G) Schematische Darstellung der Antheridienentwicklung in *Polypodium polycarpon*. H) "Offene" Trichterzelle, aus Schraudolf (1968).

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung dieser Wand wurden Prothallien herangezogen, deren Antheridien den Stadien E oder G der Abb. III entsprechen. Die Aufnahme eines Längsschnitts durch solch ein junges Antheridium von *Polypodium crassifolium* zeigt Abb. 1. Die trichterförmige Innenwand der unteren Ringzelle ist außerhalb der Anschlußstelle an die Basalwand geschnitten, und die Glockenzelle hat sich wahrscheinlich noch nicht in obere Ring- und Deckelzelle geteilt. Beide Zellen, untere Ring- und Glockenzelle, sind stark vakuolisiert. Sie umschließen einen Zellkomplex, der durch mehrere Teilungen aus der Zentralzelle hervorgegangen ist und das spermatogene Gewebe darstellt.

Die Kerne dieser Zellen besitzen stark kondensiertes Chromatin. Das gilt aber auch - wie Schnitte durch andere Antheridien zeigen - für beide Ringzellen und die Deckelzelle (z.B. Abb. 2).

Vazart (1956), die die sexuelle Fortpflanzung einiger Farne lichtmikroskopisch untersuchte, schreibt über die Kerne der Antheridienhülle: "Le réseau chromosomique dereure très chromatique en interphase".

Für dieses Kapitel der hier vorliegenden Arbeit, das der Trichterzellbildung gilt, sind nur die Schnitte, die die Zellwandverhältnisse an der Trichterbasis zeigen, von Bedeutung. Hierbei wirkte es sich auf die Untersuchung erschwerend aus, daß der entscheidende Teil der Basalwand nur auf eine kurze Strecke dieser Wand beschränkt ist und daß außerdem die Orientierung der Prothallien Schwierigkeiten bereitete.

Auf den Abbildungen 3, 4, 5 und 6 sind Schnitte durch die Trichterbasis wiedergegeben. Dabei finden sich Schnitte, in denen zwischen der Trichterbasis und den seitlichen Teilen der Basalwand kein deutlicher Unterschied besteht, der bei einem sekundären Kontakt gemäß Davie's Modell zu erwarten wäre (Abb. 3 z.B.). Doch finden sich in anderen Schnitten an der Stelle, an der die trichterförmige Wand der unteren Ringzelle an die Basalwand des Antheridiums anschließt, Verdickungen der Zellwand und vesikuläre Einschlüsse zwischen den beiden Wänden (Abb. 4, 5, 6).

Besonders ausgeprägt sind diese Einschlüsse und Verdickungen im Bereich der Basalwand bei einem beobachteten teratologischen Antheridium (Abb. 7). Zwar ist es nicht zur Bildung einer "offenen" Trichterzelle gekommen (Abb. III: H), wie sie Schraudolf (1968) beschreibt, doch zeichnet sich hier die untere Ringzelle durch äußerst starke Asymmetrie aus (Abb. 8). Der Teil der Ringzelle, der dadurch bedingt nur einen schmalen Raum zwischen Basalwand und Glockenzelle einnimmt (letztere ist noch ungeteilt), ist im Kontaktbereich zwischen Basal- und Trichterwand durch Wandverdickungen fast völlig ausgefüllt (Abb. 9, 10). Bemerkenswert ist, daß in Plasma Strukturen auftreten, die den in der Zellwand vorkommenden Strukturen ähneln (Abb. 9).

Plasmodiesmen sind in allen Zellwänden zwischen den Zellen des Antheridiums zu sehen. Sie treten also auch in der Basalwand und hier wiederum auch in der Trichterbasis auf (Abb. 3, 11). Wenn diese Wand schräg angeschnitten wird, können die Plasmodiesmen im Querschnitt erscheinen, wie z.B. auf Abb. 12, auf der man zum Teil das auskleidende Plasmalemma erkennt. Ebenfalls auf Abb. 12 ist eine ungewöhnliche und kaum deutbare Mikrotubulianordnung zu sehen. Über ähnlich orientierte Mikrotubuli berichteten auch Robards und Humpherson (1967).

Zu bemerken ist noch, daß oft vesikuläre, gegen die Zellwand hin geöffnete Körper zu sehen sind (Abb. 10, 13). Bei verschiedenen Vesikeln, die als frei im Plasma liegend erscheinen, dürfte die Verbindung mit dem Plasmalemma im Schnitt nicht erfaßt worden sein. Weder auffällige Verdickungen noch Einschlüsse in die Zellwand sind an der Stelle, an der die Deckelzelle durch eine Wand vom spermatogenen Gewebe abgegrenzt wird, zu beobachten (Abb. 2). Es fehlen also in diesem Wandbereich Anzeichen für einen sekundären Kontakt zweier Zellwände, den Davie (1951) - wie schon in der Einleitung ausgeführt - fordert.

2.) Anemia phyllitidis: Untersuchungen zur Antheridienbildung

a) Telophasen in der Spitzenzelle des Prothalliums

Die erste Teilung, mit der die Bildung des Antheridiums von Anemia phyllitidis eingeleitet wird und die bei der angewendeten Gibberellinkonzentration in der Spitzenzelle des Prothalliums abläuft, ist mit der Entstehung einer kuppelförmigen Wand verbunden. Diese trennt zwei sich deutlich voneinander unterscheidende Zellen, die Glocken- und die Zentralzelle (z.B. Abb. 14). Letztere besitzt sehr viele Mitochondrien. Eine große Anzahl davon liegt im Bereich zwischen Kern und Basalwand, wie Schnitte zeigen, die annähernd median durch die Antheridienanlage geführt wurden (Abb. 14, 15). Die Glockenzelle dagegen ist durch starke Vakuolisierung ausgezeichnet. Beide Zellen scheinen sich nicht wesentlich in ihrer Plastidenzahl zu unterscheiden.

Die Abbildungen 15, 16 und 17 zeigen Übersichtsaufnahmen von Spitzenzellen mit verschieden weit fortgeschrittener Glockenzellbildung. So läßt Abbildung 16 eine junge vesikuläre Zellplatte erkennen, die an den Seiten nur leicht abwärts gebogen ist, während auf Abb. 15 die Kuppelform der zukünftigen Wand bereits ausgebildet ist. Die Zellplatte auf Abb. 17 hat fast die Basalwand erreicht. Auf dieser Abbildung ist der Kern der Spermatozoidmutterzelle teilweise flächig angeschnitten, so daß Kernporen in Aufsicht zu sehen sind (Abb. 17a).

Sind die Prothallien so fixiert worden, daß Mikrotubuli erhalten bleiben, zeigt sich, daß letztere meist mehr oder weniger senkrecht zur Zellplatte orientiert sind (Abb. 18). Sobald sich diese der Basalwand stark nähert, verlaufen die Mikrotubuli deshalb fast parallel zur Basalwand (Abb. 19, 65).

In Spitzenzellen, in denen zur Glockenzellbildung führende Telophasen vorliegen, sind die meisten Vakuolen entlang der Außenwand angeordnet. Doch zeigt es sich, daß Zellen mit ebenfalls randständigen Vakuolen durchaus in der Lage sind, bei einer Teilung transversale Wände anzulegen. So wird während der Stielzellbildung oft beobachtet, daß die Zellplatte in einer durch eine Vakuole ziehenden Plasmabrücke verläuft, die die Verbindung mit dem wandständigen Plasma herstellt (Abb. 14, 20). Über einen ähnlichen Vorgang in sich teilenden Zellen einer Zellkultur von *Acer pseudoplatanus* berichten Roberts und Northcote (1970).

Auch die beobachtete Bildung einer transversalen Wand bei einer vegetativen Teilung in der Spitzenzelle zeigt, daß in größerer Zahl vorhandene wandständige Vakuolen kein Hindernis für diesen Wandverlauf darstellen (Abb. 21, 22). Auf Abb. 21 erkennt man auch, daß die sich vegetativ teilende Zelle hinsichtlich ihrer Organellenverteilung und -anordnung von der sich in Teilung befindenden Antheridieninitiale zu unterscheiden ist, die zur Bildung der Glockenzelle ansetzt. So sind die beiden noch unregelmäßig konturierten Tochterkerne nicht der Zellspitze genähert. Zudem erhält die obere Tochterzelle weniger Vakuolen, aber mehr Mitochondrien als die untere.

b) Bildung der Glockenzelle

Kenntnis der Organellenanordnung während der fortgeschrittenen Telophase sowie der abgeschlossenen Glockenzellbildung legt es nahe, beobachtete Mitosestadien in der Spitzenzelle als zur Glockenzellbildung führend zu deuten. Allen gemeinsam sind die schon aufgeführten Kennzeichen: Kern bzw. Chromosomen oder Tochterkerne sind der Zellspitze genähert. Zahlreiche Mitochondrien liegen im basalen Teil der sich teilenden Zellen, und fast alle Vakuolen sind wandständig. Die Plastiden erscheinen ohne deutliche Bevorzugung einer Zellregion in der Zelle verteilt. So sind die Mitosestadien der zur Antheridienbildung führenden Zellteilung im wesentlichen durch die Lage ihrer Kerne und Mitochondrien gekennzeichnet.

Prophase, Metaphase, Anaphase, Telophase

Abb. 23 zeigt eine Spitzenzelle, deren apikal liegender Kern sich in später Prophase befindet. Der Kernbereich erscheint trotz kontrastreicher Granulierung weniger dicht als das ihn umgebende Plasma. Chromosomen sind schon zu erkennen, ein Nukleolus ist noch sichtbar. Er ähnelt dem Nukleolus im fortgeschrittenen Stadium der Auflösung, über den Lafontaine und Chouinard (Abb. 15, 1963) berichten. Der Verlauf der Kernhülle ist unregelmäßig, sie zeigt bereits kleinere Unterbrechungen (Abb.

24). In der Umgebung des Kernes findet man Mikrotubuli, die im Schnitt sowohl längs als auch quer getroffen erscheinen (Abb.

25). Auch in unmittelbarer Nähe der Basalwand sind einige Mikrotubuli zu erkennen (26). In enger Nachbarschaft zum Kern treten vereinzelt Organelle wie z.B. Plastiden, Lipidtropfen und microbodies auf, sodaß eine wohldefinierte "clear zone" nicht überall zu erkennen ist. Vielleicht behindern stellenweise die großen wandständigen Vakuolen die deutliche Ausbildung eines von größeren Organellen freien Bereichs in Kernnähe. Daß die Ausdehnung der "clear zone" von den räumlichen Gegebenheiten innerhalb der Zelle beeinflusst werden kann, geht schon aus der Arbeit von Esau und Cill (1969) hervor.

Eine Spitzenzelle in Metaphase zeigt Abb. 27. Diese Aufnahme wird nur um der Vollständigkeit willen eingefügt. Es kam hier zu einer Ausfällung des Kontrastierungsmittels.

Im Verlauf der Anaphase weichen die Chromosomen auseinander (Abb. 28). Über sie hinaus sind Mikrotubuli zu verfolgen, die in einem von größeren Organellen freien Bereich münden (Abb. 29, 30, 31), der wahrscheinlich als Polzone anzusprechen ist. Im Phragmoplasten sind zahlreiche Vesikel zu erkennen, zum Teil mit elektronendichtem Inhalt. In diesem Bereich verlaufen Mikrotubuli, außerdem sind Elemente des ER vorhanden (Abb. 32). Gelegentlich, so in Abb. 32, erscheinen die Mikrotubuli, ähnlich den "interzonal microtubules" der Anaphase bei *Chara* sp. (Pickett-Heaps 1967a), "gebündelt". An den Rändern des Phragmoplasten liegen oft Golgiapparate (Abb. 29, 32). Vereinzelt kommen Stränge des ER in enger Nachbarschaft von Chromosomen vor, wahrscheinlich ein Anzeichen der beginnenden Neubildung der Kernhülle (Abb. 30). Auffallend sind Anhäufungen kleiner, in ihrer Herkunft und Funktion nicht zu identifizierender Vesikel, die sowohl an der Basalwand (Abb. 33) als auch z.T. frei im Plasma liegen.

In der Telophase ist bereits die junge Zellplatte erkennbar (Abb. 34). Sie verläuft noch waagrecht und ihr Aufbau erscheint im Querschnitt rein vesikulär. Im Bereich zwischen Zellplatte und Tochterkernen verlaufen Mikrotubuli. Außerdem ist im Phragmoplasten ER erkennbar (Abb. 35, 36). Die Hüllen der stark gelappten Tochterkerne sind noch unvollständig, doch sind z.T. schon Kernporen ausgebildet. Gerade in diesem Stadium ist die enge Beziehung zwischen ER und Kernhülle besonders deutlich (Abb. 35, 36, 37). Bisweilen sind Elemente des ER auch zwischen dem dichten Chromatin der Tochterkerne zu sehen (Abb. 35, 38), in denen die einzelnen Chromosomen nicht mehr unterschieden werden können. Auch hier, wie in der Anaphase, sind die Gruppen kleiner Vesikel zu beobachten (Abb. 39, 40). Ebenso treten Golgiapparate am Rande des Phragmoplasten auf (Abb. 37, 41). Sobald dieser im Schnitt wahrscheinlich mehr peripher erfaßt wird, sind auch einzelne Mitochondrien und Golgiapparate in seinem Bereich zu sehen (Abb. 35).

c) Bildung der Stielzelle

Die Stielzelle entsteht bei der Teilung der vegetativen Zelle, die basal an das Antheridium bzw. dessen Initiale anschließt. Diese vegetative Zelle ist in der Regel stark vakuolisiert. Bei einer annähernd medianen Schnittführung nimmt der Kern einen beachtlichen Teil der in die zentral gelegenen großen Vakuole reichenden oder von großen Vakuolen umgebenen Plasmaportion ein. Er ist der Wand, die diese Zelle von der Spitzenzelle trennt, stark genähert (Abb. 15, 28).

Prophase, Metaphase, Anaphase, Telophase

Einen deutlichen Hinweis darauf, daß sich der Kern in früher Prophase befindet, gibt oft nur das lokalisierte Auftreten mehrerer Mikrotubuli an der Außenwand in Höhe der zukünftigen Ansatzstelle der Stielzellwand (Abb. 42). Mikrotubuli treten dort zwar auch auf, wenn es sich nicht um eine Prophase handelt, doch sind sie dann mehr oder weniger gleichmäßig über größere Strecken entlang der Außenwand verteilt (Abb. 43, 44). In der späten Prophase (Abb. 45) sind noch Teile der Kernhülle zu sehen (Abb. 46), doch verlaufen bereits Mikrotubuli zwischen den Chromosomen (Abb. 47).

Eine Metaphase oder ein Übergang zur Anaphase - die einzelnen Phasen gehen fließend ineinander über - ist auf Abb. 48 zu sehen. Die Chromosomen reichen bis fast an die obere Zellwand heran (Abb. 49). Peripher gelegene Chromosomen sind in eventuell enger Nachbarschaft mit anderen Organellen zu finden (Abb. 49).

Bei der Bildung der Stielzelle wurde keine Anaphase beobachtet. Am häufigsten lagen Telophasen vor, z.B. Abb. 50. In diesem Stadium ist eindeutig festzustellen, daß auch die Stielzelle aus einer inäqualen Teilung hervorgeht. Beide Tochterkerne liegen nahe beieinander. Man erkennt, daß die zukünftige Stielzelle sehr schmal sein wird. Betrachtet man Stadien, in denen die Zellplatte die Außenwand fast oder ganz erreicht hat, so findet man, daß u.U. die Zellplatte einen leicht kurvigen Verlauf hat (Abb. 14).

Ihr Abstand zur oberen Zellwand ist im Bereich des Kernes größer als an der Anschlußstelle an die Außenwand, die über die künftige Höhe der Zelle Auskunft gibt (Abb. 51). Es ist also anzunehmen, daß der Kern im Verlauf der Wandverfestigung abgeflacht wird, bis er ein Aussehen wie auf Abb. 52 hat (Schraudolph, mündl. Mitteilung). Die Schwesterzelle der Stielzelle ist stark vakuolisiert. Doch auch diese selbst besitzt verhältnismäßig große Vakuolen. Oft kann beobachtet werden, daß die junge Zellplatte über eine Plasmabrücke, die durch eine Vakuole führt, das wandständige Plasma erreicht (z.B. Abb. 14).

d) Musterbildung

Die frühen Stadien der Antheridienentwicklung bieten, wie schon in der Einleitung gesagt, die Möglichkeit, mit elektronenmikroskopischen Methoden die Musterbildung zu verfolgen.

Zunächst gehen aus der inäqualen Teilung der Antheridieninitiale Glocken- und Zentralzelle hervor (Abb. 15). Die basal von dieser Zelle bzw. von diesen Zellen liegende vegetative Zelle teilt sich ebenfalls inäqual, wobei die Stielzelle gebildet wird (Abb. 14). Die Teilung der vegetativen Zelle setzt in der Regel erst ein, wenn die Wandbildung zwischen Glockenzelle und Spermatozoidmutterzelle begonnen hat (Abb. 45). Doch finden sich häufig Prothallien, bei denen die Zellplatte der Glocken- und die der Stielzellwand fast gleichzeitig den Anschluß an die sie jeweils begrenzende Zellwand erreichen. Die Glockenzelle teilt sich im Normalfall erst nach Ausbildung der Stielzelle in Ring- und Dekkelzelle (Abb. 52). Vorher haben meist schon Teilungen der zentralen Zelle stattgefunden. Wie auch bei Polypodium, wurde keine Mitose in der Glockenzelle gefunden.

Die einzelnen Zellen eines Antheridiums unterscheiden sich hinsichtlich ihres Organellengehaltes nur quantitativ voneinander. Eine elektronenmikroskopisch erfaßbare Erklärung des Verlaufes der Musterbildung ist einstweilen nicht möglich.

In der oder den vegetativen Zellen können weitere Teilungen ablaufen. Sie führen zur Verlängerung des Zellfadens (Abb. 20) oder zur Bildung eines seitlich entstehenden Antheridiums (Abb. 53).

e) Organelle

Plastiden

Die Plastiden von *Anemia phyllitidis*, die in den zu untersuchenden Prothallien beobachtet werden konnten, zeigten unter den gewählten Anzuchtmethoden eine wenig differenzierte Innenstruktur. Sie besitzen zwar Thylakoide, aber - wenn überhaupt - meist nur Ansätze einer Granabildung (z.B. Abb. 19). Häufig sind ein oder mehrere Stärkekörner anzutreffen (z.B. Abb. 33), auch Plastoglobuli gehören zu den Bestandteilen dieser Plastiden (Abb. 19). Die Funktion der Globuli ist noch ungeklärt, doch nimmt man an, daß eine ihrer Funktionen die eines "Baustofflieferanten bei der Thylakoidsynthese" ist (Sprey, Lichtenthaler 1966). Des öfteren sind diese Globuli halbkreisförmig, seltener völlig von kleinen Granastapeln umschlossen (Abb. 19). Einzelne Plastiden zeigen Protuberanzen (Abb. 19), außerdem treten Plastiden mit mehr oder weniger starken Einschnürungen auf (Abb. 54).

Bei medianer Schnittführung zeigt sich kein quantitativer Unterschied des Plastidenbesatzes zwischen Glockenzelle und zentraler Zelle (z.B. Abb. 14, 16); darüber könnten nur Serienschnitte exakte Auskunft geben. Wesentlicher erscheint, daß morphologische Unterschiede zwischen den Plastiden der beiden genannten Zellen wie auch zwischen diesen und der Stielzelle nicht zu beobachten sind. Es ist nicht auszuschließen, daß auch die spezifische Anzuchtmethode dafür verantwortlich zu machen ist. Deshalb - und zusätzlich wegen des Zeitraumes bis zur Fixierung (s. Material und Methoden) - soll über die Struktur der Plastiden von *Polypodium* nur soviel gesagt werden, daß auch hier die wenig differenzierten Formen häufig sind, daß jedoch schon ausgeprägte Granastapel beobachtet werden können (Abb. 55). Es erscheint bemerkenswert, daß Plastiden mit Granastruktur in der Zentralzelle bzw. in den Zellen des spermatogenen Gewebes auftreten. Das weitere Schicksal dieser Zellen und damit das der Plastiden ist hier nicht verfolgt worden. Doch da Vazart (1964) im Zusammenhang mit ihrer Untersuchung über die Entwicklung des Bewegungsapparates von *Polypodium vulgare* von "plastes régressés" spricht, ist anzunehmen, daß die erwähnten Plastiden des spermatogenen Gewebes einen Prozess der Dedifferenzierung durchmachen werden.

Die Prothallien von *Anemia* wurden im Dauerlicht angezogen. So war es überraschend, eine einem Prolamellarkörper entsprechende Bildung in einem Plastiden zu finden (Abb. 56). Sie deutet darauf hin, daß der Plastid eventuell aus einem in der Nährlösung untergetauchten und deshalb etiolierten Prothallium stammt. Nur einmal, und zwar in einem Plastiden von *Polypodium*, wurde eine Struktur beobachtet, die den z.B. von Wischer (1967) beobachteten Kristalloiden ähnelt (Abb. 57).

Ribosomen und Endoplasmatisches Retikulum (ER)

In allen Zellen sind Stränge des ER zu erkennen. Sie begleiten häufig in der Zentralzelle die Vakuolen, wobei sie zu mehreren ungefähr parallel orientiert auftreten können (Abb. 33, 39). Duckett (1972) berichtet über eine ähnliche Anordnung des ER im peripheren Cytoplasma des unbefruchteten Dies von *Pteridium aquilinum*.

Besonders in der Telophase sind Stapel von ER in der Nähe der Kerne zu beobachten (Abb. 51, 58). Bei der Teilung, aus der Glocken- und Zentralzelle hervorgehen, werden jedoch keine so ausgeprägt parallelen Elemente des ER in der Nachbarschaft der Kerne gefunden. Ob hier Unterschiede im Verhalten des ER in den sich teilenden Zellen vorliegen oder ob diese Erscheinung mehr zufälliger Art ist, bedingt durch Schnittführung und Stadium, muß im Augenblick noch offen gelassen werden. Auf die enge Beziehung zwischen ER und Kernhülle ist bereits in der Beschreibung der Ana- und Telophase in der Spitzenzelle des Prothalliums von *Anemia* hingewiesen worden.

Sowohl frei im Plasma als auch im Kontakt mit dem Endoplasmatischen Retikulum (ER) sind Ribosomen in den untersuchten Zellen beobachtet worden. Dabei erkennt man sowohl ER mit dichtem Ribosomenbesatz als auch Stränge, die über größere Bereiche ribosomenfrei erscheinen (z.B. Abb. 33). Auch an der dem Plasma zugewandten Seite der Kernhülle treten Ribosomen auf (Abb. 51). Sofern die Hülle flächig angeschnitten wird, sind vereinzelt in der Nähe der Kernporen typische spiralenförmige Polysomen zu beobachten (Abb. 59), von denen anzunehmen ist, daß sie der Kern-

hülle aufsitzten (Whaley et al. in Reinert, Ursprung, 1971, S. 7, Abb. 5a). Allgemein ist festzustellen, daß in den simultan fixierten Prothallien von *Anemia Polysomen* (Abb. 60) häufiger auftreten als bei einer Fixierung, bei der Glutaraldehyd und OsO_4 aufeinanderfolgend verwendet werden. Unabhängig von der Fixierungsart werden in den Prothallien von *Anemia Ribosomenhelices* gefunden (Abb. 61, 62).

Vakuolen

Mit Ausnahme der Zentralzelle sind alle übrigen Zellen der Prothallien beider Farne stark vakuolisiert. Sofern die Spitzenzelle des *Anemia*-Prothalliums noch nicht endgültig geteilt ist, zeigt sich in etwa medianen Schnitten, daß die größeren wandständigen Vakuolen mehr basal angeordnet sind, während kleinere Vakuolen im Bereich der Zellspitze auftreten können (z.B. Abb. 28).

Die meisten Vakuolen zeigen Anhäufungen einer elektronendichten Substanz, die dem Tonoplasten anliegen, aber auch tiefer im Vakuoleninneren liegen kann (z.B. Abb. 16).

Bei sukzedaner Fixierung werden Vakuolen mit membranösem, z.T. myelinähnlich geschichtetem Inhalt beobachtet (Abb. 18, 42, 45).

Golgiapparat

Mögliche Funktionen des Golgiapparates sind Beteiligung an der Wandbildung und -verstärkung und an der Vakuolisierung. Auf den Zusammenhang zwischen Golgiapparat und Wandbildung weisen die engen räumlichen Beziehungen zwischen diesem Organell und den Orten hin, an denen eine Zellplatte angelegt wird (Abb. 22, 32, 41, 63). Die Möglichkeit einer Beziehung Golgiapparat - Vakuolisierung erscheint durch die einige Male beobachtete Organellenanordnung (Abb. 64) nicht ausgeschlossen.

"Lomasomen" und Einschlüsse im Bereich der Zellwand

In den Prothallien von *Polypodium* treten wiederholt Gebilde auf, die den in der Literatur oft als "Lomasomen" bezeichneten Strukturen entsprechen (Abb. 10, 13). Bei *Anemia* dagegen werden bei

beiden Fixierungen nur einzelne vesikelähnliche Gebilde zwischen Plasmalemma und Wand beobachtet (z.B. Abb. 19). Doch sind bei Anemia Einschlüsse membranöser oder plasmaähnlicher Art in der Glockenzellwand festzustellen (Abb. 65, 66). Außerdem werden häufig in der Nähe der Zellplatte in Zellen von Anemia vesikelähnliche Gebilde mit meist plasmatischem Inhalt angetroffen (Abb. 67 - 69, 22).

Vesikelgruppen

In der Anaphase können Grüppchen kleiner Vesikel beobachtet werden, die in der Nähe der Basalwand der Antheridieninitiale auftreten (Abb. 33). Zuweilen liegen die Vesikel in einem dichter als das umliegende Plasma erscheinenden Bereich. Der Einzelvesikel wird von einer Membran umgrenzt, deren Aufbau oft als dreischichtig zu erkennen ist (Abb. 70, 71). Auch in der Telophase sind diese Gruppierungen anzutreffen (Abb. 39). Eine genauere Analyse zeigt, daß das Vorkommen nicht auf die Umgebung der Basalwand beschränkt ist (Abb. 40).

Weitere Organelle

Plasmodesmen: In den Zellwänden, die die einzelnen Zellen eines Antheridiums voneinander abgrenzen, verlaufen Plasmodesmen. Da sie verhältnismäßig klein sind, ist eine Schnittführung, bei der Details ihrer Struktur sichtbar werden, selten. Eine der wenigen Ausnahmen stellt Abb. 72 dar, die von Anemia stammt.

Lipidtropfen: Sie werden oft beobachtet (z.B. Abb. 44). Fast völlig mit Lipiden ausgefüllt ist die Spore, wie auf Abb. 74 zu sehen ist (Anemia).

Während zahlreiche Autoren zwischen Lipidtropfen und Sphärosomen unterscheiden (Übersicht bei Sitte 1969), halten Yatsu et al. (1971) eine derartige Unterscheidung für unkorrekt.

Multivesikuläre Körper, coated vesicles, microbodies.

Der Vollständigkeit halber seien hier noch weitere beobachtete Organelle erwähnt. So treten auch multivesikuläre Körper (z.B. Abb. 41) und coated vesicles (Abb. 19) auf.

Häufig zu erkennen sind microbodies (z.B. Abb. 25). Mit ihrer einfachen Außenmembran und dem wohl granulären Inhalt gleichen sie rein äußerlich den von Frederick et al. (1968) beschriebenen Strukturen. So treten auch in den Prothallienzellen von *Anemia phyllitidis* microbodies auf, deren Inhalt Stellen größerer Elektronendichte besitzt (Abb. 73). Auch vesikuläre (Abb. 73), aber keine kristallinen Einschlüsse werden gefunden. Ob es sich bei diesen vesikulären Einschlüssen um völlig vom microbody umgebene Vesikel oder um Einstülpungen handelt, müßte durch die Untersuchung von Serienschnitten geklärt werden (Frederick et al. 1968). Dabei wird von diesen Autoren nicht ausgeschlossen, daß es sich bei den beobachteten Einschlüssen um ER handelt.

IV. Diskussion

Für die Entstehung der trichterförmigen unteren Ringzelle des Antheridiums von *Polypodium* gibt es im wesentlichen zwei Theorien: Davie (1951) führt die Bildung auf das Einwirken eines starken Binnendrucks auf eine ursprünglich transversale Wand zurück. Die Ergebnisse von Stone (1962), von Schraudolf (1968) bestätigt, sprechen für eine von vornherein trichterförmig angelegte Zellwand. Sie sind damit im Einklang mit Autoren wie Kny (1869) und Strasburger (1880). In beiden Fällen wird ein Kontakt zwischen der Basalwand des Antheridiums und der trichterförmigen Wand zwischen Ringzelle und spermatogenem Gewebe bzw. zentraler Zelle hergestellt. Nach der Theorie Davie's handelt es sich dabei um den sekundären Kontakt zweier Wände. Die andere Entstehungsmöglichkeit bedeutet, daß der Rand einer jungen Zellplatte Anschluß an eine fertige Zellwand findet, der für Zellteilungen übliche Vorgang.

Diese unterschiedliche Entstehungsart sollte sich auch im Erscheinungsbild der Zellwand im Bereich der Trichterbasis ausdrücken. Doch bieten die Schnitte kein eindeutiges Bild. Zwar finden sich durchaus Antheridien, bei denen der von der trichterförmigen Zellwand umschlossene Bereich nicht dicker als die übrige Basalwand ist, doch sind ebenso Wände zu sehen, bei denen der zu untersuchende Wandabschnitt wegen seiner Dicke auffällt. Diese Wandverstärkung könnte sich mit Davie's Vorstellung erklären lassen, doch ein ebenso einleuchtendes Argument wäre die Annahme einer Schnittführung, bei der nur die Ansatzstelle der trichterförmigen Zellwand erfaßt und eventuell auch noch etwas flüchtig angeschnitten wurde (Abb. IV).

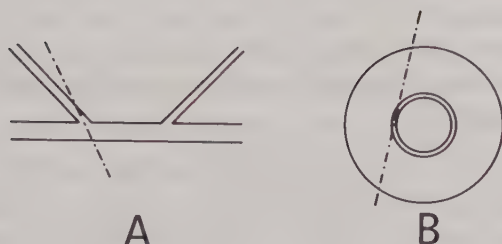


Abb. IV: A) Schematische Darstellung der "Trichterbasis" im Längsschnitt.
B) Schematische Aufsicht auf Basalwand und "Trichterbasis". Bei einer ----- entsprechenden und schrägen Schnittführung (A) wird nur die Ansatzstelle der trichterförmigen Zellwand an der Basalwand erfaßt.

Gerade im Bereich der Ansatzstelle sind zudem Wandverdickungen nicht auszuschließen. Das zeigt sich ganz extrem in dem teratologischen Antheridium, bei dem der spitze Winkel zwischen Basal- und trichterförmiger Wand fast völlig ausgefüllt ist. Es ist möglich, daß diese Erscheinung einer zellulösen Degeneration entspricht, wie sie Küster beschrieb (1956). Ein Grund für einen derartigen Vorgang könnte die Behinderung der Plasmaströmung in dem durch Basalwand und Innenwand der unteren Ringzelle gebildeten engen Raum sein.

Besonders auffällig im teratologischen, aber auch im "normalen" Antheridium sind vesikuläre Gebilde im Bereich der Zellwand. Sie dürften zum größten Teil im Zusammenhang mit den soeben besprochenen Wandverdickungen entstehen. Wahrscheinlich erfassen letztere nicht gleichmäßig den gesamten basalen Ansatzbereich der trichterförmigen Wand und weisen so noch Plasmastränge auf, die dann bei weiterer Wandverdickung und damit Einengung der Lumina wahrscheinlich degenerieren. Einige Vesikel dürften auch flächige Anschnitte der an den Wänden auftretenden vesikulären Körper darstellen.

Bei der Untersuchung der Deckelzelle, deren Entstehung weder bei *Polypodium* noch bei *Anemia* beobachtet werden konnte, zeigt die Wand, die das spermatogene Gewebe umgibt, auch im Bereich der Deckelzelle keine Verdickung. Das weist auf eine trichterförmige Bildung der Deckelzelle hin, wie sie von den Autoren, die auch für die trichterförmig angelegte Ringzelle sprechen, angenommen wird.

Es ist schwierig, von der Betrachtung der ausgebildeten unteren Ringzelle Rückschlüsse auf ihre Entstehungsart zu ziehen. Bei der Untersuchung der Fusion der konjugierenden Progametangien von *Rhizopus sexualis* fanden Hawker et al. (1969), daß die fusionierenden Zellwände ihre Identität verlieren. Andererseits zeigt die Arbeit von Bonnet (1969), der die Bildung von Seitenwurzeln und dabei auch das Schicksal der Cortexzellen verfolgte, daß letztere zwar degenerieren, daß aber in der aus den fest zusammengepreßten Zellwänden bestehenden Schicht die Einzelwände noch erkennbar sind. Tainter (1971) wiederum, der die Feinstruktur der Zwergmistel *Arceuthobium pusillum* untersuchte, fand einen extrem engen Kontakt zwischen den Zellen des Wirtes und denen des Parasiten, für den unter Umständen allein der hohe Druck des sich ausdehnenden endophytischen Systems verantwortlich ist. Doch schließt Tainter die Einwirkung von Enzymen nicht aus. An bestimmten Stellen sind Plasmodesmen zwischen Wirt- und Parasitenzellen zu beobachten. Allerdings sind die abgebildeten Plasmodesmen nicht von Plasmalemma zu Plasmalemma zu verfolgen.

Sowohl die Möglichkeit eines sehr engen sekundären Kontaktes zwischen zwei Zellwänden als auch das Auftreten von Plasmodesmen zwischen Zellen, die nicht aus einer Teilung hervorgegangen sind, relativieren unsere gegen die Davie'sche Vorstellung gerichteten Argumente. Allgemein sind Vorkommen und Entstehung von Plasmodesmen, die nicht im Zusammenhang mit einer Zellteilung gebildet werden, noch umstritten. So wird oft angenommen, daß Plasmodesmen ausschließlich im Verlauf der Zellplattenbildung entstehen (Literatur zit. bei Burgess 1972). Eine neue Arbeit von Burgess (1972) über die Chimäre *Cytisus adami* deutet

auf eine Möglichkeit sekundärer Tüpfelbildung und Entstehung von Halbplasmodesmen hin. Da letztere jedoch häufig mit den von der Nachbarzelle angelegten nicht korrespondieren, reichen diese Befunde wohl nicht aus, die bei *Polypodium* im fraglichen Wandbereich beobachteten Strukturen als sekundäre Bildungen zu charakterisieren. Sollten die von uns beobachteten Plasmodesmen jedoch unabhängig von einer Zellteilung entstehen, stünden für diesen Vorgang höchstens 48 Stunden zur Verfügung. Es ist im Augenblick nicht zu entscheiden, ob eine derartig kurze Zeitspanne zur Wandverschmelzung und zur Bildung sekundärer Plasmodesmen ausreicht.

Abschließend sei hier gesagt, daß die Beobachtung der Antheridien keine eindeutige Aussage über die Entstehung der trichterförmigen Zellwand zuläßt. Es gibt zwar einige gewichtige Argumente, die für eine von Anfang an trichterförmige Innenwand der unteren Ringzelle sprechen, doch ist eine Klärung erst von der Untersuchung der Zellteilung selbst, aus der diese Zelle hervorgeht, zu erwarten.

Lichtmikroskopische Untersuchungen an einigen Farnen, deren fertige Antheridien im Aufbau dem von *Anemia phyllitidis* entsprechen, hatten ergeben, daß die Stielzelle vor der Glockenzelle gebildet wird (Bierhorst 1966, Kny 1869, Stone 1962). Für Schizaeaceen trifft das nicht zu, denn die elektronenmikroskopische Untersuchung der Musterbildung des Antheridiums von *Anemia phyllitidis* bestätigt die lichtmikroskopisch gewonnenen Ergebnisse von Schraudolf (1963). Das fertige Antheridium besteht aus einer zentralen Zelle bzw. spermatogenem Gewebe, nach außen umgeben von Ring- und Deckelzelle, basal gegen den vegetativen Teil des Prothalliums durch die Stielzelle abgegrenzt. Dabei werden die Zellen in der Reihenfolge Glockenzelle-Stielzelle-Deckelzelle gebildet.

Eine Entstehung der zentralen Zelle aus einer abgeschnürten Vorwölbung der basalen Zelle, wie sie Bierhorst (1966) bei der Untersuchung von *Schizaea melanesica* vermutete, ist für *Anemia phyllitidis* auszuschließen.

Obwohl eine Vielzahl von Antheridien untersucht worden ist, konnten nur selten frühe und mittlere Mitosestadien bei der Bildung der Stielzelle beobachtet werden. Wahrscheinlich laufen die Mitosen mit Ausnahme der Telophasen sehr rasch ab, so daß bevorzugt späte Telophasen oder bereits getrennte Schwesterzellen erfaßt werden.

Da nur fertig ausgebildete Deckelzellen in den Schnitten vorliegen, kann nichts Endgültiges über deren Entstehungsart ausgesagt werden. Doch läßt die auch im Bereich der Deckelzelle unverdickt bleibende Wand, die das spermatogene Gewebe umgibt, wie auch bei der Deckelzelle von *Polypodium* eine trichterförmige Wandbildung erwarten (Kny 1869, Stone 1962, Schraudolf 1963). Vergleicht man im Schnitt die Stelle, an der die Wand der Deckelzelle die der Ringzelle erreicht, mit der Anschlußstelle der Ringzelle an die Basalwand des Antheridiums, findet man keinen Hinweis auf einen sekundären Kontakt zwischen Ring- und Deckelzelle.

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von Antheridien, deren Glockenzellbildung im Gange oder schon abgeschlossen ist, fallen zunächst die zahlreichen Mitochondrien auf, die im Bereich der zentralen Zelle liegen, während die zukünftige oder von ihr bereits getrennte Glockenzelle eine wesentlich geringere Anzahl dieser Organelle besitzt. Es ist diese auffällige Anordnung der Mitochondrien, die nahelegt anzunehmen, daß die abgebildeten Pro-, Ana- und Metaphasen Frühstadien der Antheridienbildung sind. Einen weiteren Hinweis gibt die Mitochondriengruppierung der Zelle, deren Teilung offensichtlich zur Verlängerung des Prothalliums führt (Abb. 21). Geht man davon aus, daß eine Zelle mit einer Organellenanordnung, wie sie die dabei entstehende zukünftige Spitzenzelle zeigt, Ausgangspunkt für das Antheridium sein wird, so setzt dessen Bildung eine Umverteilung von Zellorganellen voraus: der Zellkern müßte gegen die Zellspitze hin verlagert werden, ein Großteil der Mitochondrien dagegen in Richtung Basalwand. Auf Grund der Organellenanordnung wäre also eine Zelle wie die auf Abb. 75 als Proantheridialzelle anzusprechen.

Da bei der Musterbildung des Antheridiums von *Anemia phyllitidis* asymmetrische Teilungen ablaufen, erscheint eine Diskussion der bisherigen Ergebnisse von Strukturuntersuchungen an inäqualen Teilungen angebracht. Elektronenmikroskopische Untersuchungen auf diesem Gebiet befassen sich z.B. mit der in Pollen ablaufenden ersten Mitose, die zur Bildung einer vegetativen und einer generativen Zelle führt, wie auch mit der Stomabildung. Für letztere sind bei den gut untersuchten Monokotyledonen u.a. zwei inäquale Teilungen notwendig, die beide mit typischen Organellenumverteilungen verbunden sind. So erhält jeweils die Zelle, die nicht zum Stomakomplex gehören wird, die überwiegende Anzahl der Vakuolen (Pickett-Heaps, Northcote 1966 b, Zeiger 1971). Außerdem kommt es hier zu einer der Teilung vorausgehenden Kernverlagerung, wie das auch bei der Pollenmitose der Fall ist (Burgess 1970 a, Sanger, Jackson 1971). Dabei erhält die generative Zelle von *Haemanthus* (Sanger, Jackson 1971) keine Plastiden. Die Autoren deuten an, daß eventuell die Plastidengröße die Aufnahme dieser Organelle in die vegetative Zelle beeinträchtigt. Prüft man daraufhin das Antheridium von *Anemia*, so liegt kein entsprechender Grund für die Anhäufung von Mitochondrien in der zentralen Zelle und für die allem Anschein nach gleichmäßige Verteilung der Plastiden zwischen zentraler und Glockenzelle vor. Beide Organelle findet man, wie die Untersuchungen von Manton (1959) zeigten, im Spermatozoid von *Pteridium aquilinum*. Diese Beobachtung wurde von Tourte (1971) und Duckett und Bell (1971) bestätigt. Vorversuche an *Anemia* zeigten ebenfalls das Vorhandensein von Plastiden und Mitochondrien im reifen Spermatozoid dieser Spezies.

Weniger zahlreich als Berichte über Organellenverlagerungen sind deren Deutungsversuche. So konnten z.B. die bereits in diesem Zusammenhang zitierten Autoren Sanger u. Jackson (1971) weder bei ihrem Objekt noch in den Arbeiten anderer Autoren, die ebenfalls Pollenmitosen untersuchten, einen Hinweis darauf finden, daß die Kernverlagerung vor der Teilung mit besonderen ultrastrukturellen Gegebenheiten verbunden ist. Zeiger (1971) fordert einen Regulationsmechanismus, der für Bewegungsvorgänge und Anordnung der Organellen im Verlauf der Stomabildung verantwortlich ist. Stewart et al. (1967), die die Entwicklung der

Embryosackmutterzelle von *Ginkgo biloba* untersuchten, weisen darauf hin, daß der Mechanismus, durch den Mitochondrien und Plastiden bewegt und dann in dem erreichten Zellteil festgehalten werden, unbekannt ist. Sie erwägen jedoch einen Transport durch mehrfach erfolgenden Wechsel der Plasmabeschaffenheit von Sol zu Gel zu Sol usw. Haben die Organelle ihren endgültigen Platz erreicht, soll der Gesamtzustand der eines Gels und dadurch die Lage der Zellorganelle fixiert sein.

Quatrano (1972) erwägt für die Organellenverlagerung anlässlich der Rhizoidbildung bei *Fucus* die Bedeutung des von Jaffe entdeckten elektrischen Stromes, der zur Zeit der Rhizoidinitiation durch die Zygote von *Fucus furcatus* fließt. La Fountain (1972) wiederum hält die Mikrotubuli bei einer allerdings nicht asymmetrischen Teilung für verantwortlich für die gleichmäßige Verteilung der Mitochondrien auf die Tochterzellen (Meiose in *Nephrotoma-Spermatocyten*).

Diers (1965) beobachtet im Verlauf der Archegonienentwicklung von *Sphaerocarpus* in der sekundären Zentralzelle eine Kernverlagerung in den oberen Zellteil. Er erklärt Ansammlung und gerichtete Anordnung der Plastiden und Mitochondrien im basalen Zellteil damit, daß durch die Kernverlagerung nur noch hier Platz für diese Organelle ist. Ihre Verlagerung ist nach Diers - wenigstens teilweise - das Ergebnis der der inäqualen Teilung der sekundären Zentralzelle vorausgehenden Plasmaströmung. Die Mitbeteiligung anderer Komponenten wie z.B. die Ausbildung der Spindel, wird für möglich gehalten, doch muß darüber noch entschieden werden. Auch Kaufman et al. (1970) betonen im Zusammenhang mit der Stomabildung, daß der auslösende Faktor für die Kernwanderung unbekannt ist. Sie erwägen einen von der guard mother cell ausgehenden hormonalen Einfluß, der in der Nachbarzelle sowohl Kernwanderung als auch die Ausbildung des Präprophasebandes induziert (Pickett-Heaps, Northcote 1966 b). Dieses von Mikrotubuli gebildete Band, das Pickett-Heaps und Northcote (1966 a, b) beschrieben und das in der Folgezeit auch von anderen Autoren beobachtet werden konnte, sollte in Weizenzellen die Teilungsebene vorherbestimmen (Pickett-Heaps 1968). Doch stellte es sich heraus, daß auch inäquale Teilungen ablaufen können, ohne daß

ein Präprophaseband gebildet wird (Pickett-Heaps 1967a, Heslop-Harrison 1968, Burgess 1970 a, Sanger, Jackson 1971). Burgess und Northcote (1967) wiederum fanden ein symmetrisch um den Kern orientiertes Band, obwohl es sich - allerdings erst in der Metaphase sichtbar - um asymmetrische Teilungen in meristematischen Zellen der Wurzelspitze von *Phleum pratense* handelte. Deshalb nahmen sie an, daß die Aufgabe des Präprophasebandes die Orientierung des Kernes vor der Mitose ist. Pickett-Heaps (1969) hält es nach zahlreichen Untersuchungen für möglich, daß das Präprophaseband Ergebnis, aber nicht die Ursache einer Polarisierung ist. Daß diese Mikrotubulianordnung auch bei Farnen vorkommt, konnte Burgess (1970 b) zeigen, als er die Mitose in Adventivwurzeln von *Dryopteris filix-mas* untersuchte. Einen Hinweis auf die Existenz dieses Bandes bei *Anemia* geben die wenigen Mikrotubuli der Spitzenzelle in Prophase an der Stelle, an der das Präprophaseband zu erwarten ist. Die Anzahl der Mikrotubuli verringert sich mit fortschreitender Prophase (Pickett-Heaps, Northcote 1966 a), sodaß es sich bei unseren Beobachtungen um die Reste des Bandes handeln dürfte. Doch muß gesagt werden, daß dieses Stadium zu selten gefunden wurde, als daß im Augenblick mehr als eine Vermutung ausgesprochen werden kann. Deutlicher ist eine einem Präprophaseband entsprechende Anordnung von Mikrotubuli bei der zur Stielzellbildung führenden Teilung. Allerdings sind die Mikrotubuli nicht so zahlreich, wie sie z.B. von Burgess und Northcote (1967) beobachtet werden konnten. Doch geht u.a. aus der Arbeit von Esau und Gill (1969) hervor, daß ein Präprophaseband durchaus nicht mehrere Reihen tief sein muß.

Eine weitere, bislang ungeklärte Frage betrifft die Ausbildung einer gekrümmten Zellplatte. Man findet sie nicht nur bei Antheridien der Schizaeaceen und Farnen entsprechenden Antheridienmusters, sondern z.B. auch bei der Stomabildung und bei der ersten Teilung in Pollen. Roland (1971) sieht diesen Wandverlauf in Abhängigkeit von der morphogenetischen Aktivität der Spindel. Diese Ansicht vertritt auch Heslop-Harrison (1968): "The observations on the formation of the generative cell wall demonstrate again the basic morphogenetic role played by the spindle microtubules in cytokinesis even where the product is a hemispherical wall".

Pickett-Heaps und Northcote (1966 a, b) vermuten, daß Mikrotubuli sowohl diese Form als auch die gerichtete Bewegung der die Platte aufbauenden Vesikel beeinflussen. Eine "ordnende" Wirkung der Mikrotubuli wird ja auch z.B. für das lokale Dickenwachstum der Tracheiden angenommen (Maitra 1971).

Faßt man das bisher Besprochene zusammen, kann man sagen, daß es zwar allgemeine Anzeichen für einen sich vorbereitenden Differenzierungsvorgang gibt (Präprophaseband, Organellenverlagerung), man aber keinen eindeutigen Hinweis auf ihn bewirkende ultrastrukturelle Ereignisse findet. Pouck (1963) stellt im Zusammenhang mit Zentrifugierungsversuchen fest, daß Zellverlängerung oder Teilung eine bestimmte räumliche Anordnung von Zellorganellen voraussetzen. Doch da es auch Zellen gibt, die sich vor dieser Rückverlagerung von Zellorganellen teilen können (*Ascaris*), ist er der Ansicht, daß evt. die Anordnung wachstums- oder teilungsfördernder Substanzen, die durch die Zentrifugation weniger beeinflußt werden, wichtiger für die Zellteilung ist als die Organellenverteilung selbst.

Daß nicht jede asymmetrische Teilung zur Bildung physiologisch verschiedener Zellen führt, stellt Avers (1963) anhand ihrer Untersuchungen der asymmetrischen Mitose und der Zelldifferenzierung im Wurzelmeristem von *Phleum* fest. Sie schließt daraus, daß eine besondere Orientierung der Spindel durch einen intrazellulären cytoplasmatischen Gradienten bewirkt wird, der seinerseits aber in Bezug auf die anschließende Differenzierung der Tochterzellen vom größeren Gewebegradienten überlagert wird. Die ultrastrukturellen Änderungen während der Mitose sind demnach auf deren Einfluß zurückzuführen und müssen nicht unmittelbar im Zusammenhang mit den unterschiedlichen physiologischen Eigenschaften der Schwesterzellen stehen.

Im Zusammenhang mit der Stomabildung spricht Pickett-Heaps (1969) von physiologischen Gradienten. Diese stehen im Zusammenhang mit meristematischen Regionen oder entsprechend wirkenden Einzelzellen (Stomamutterzelle). Die asymmetrischen Zellteilungen verlaufen im rechten Winkel zum Gradienten, "...but with the first and second asymmetrical divisions giving curved plates in a 'curved' field".

Auch bei den Antheridien von *Anemia* wäre es denkbar, daß die Bildung der Stielzelle von der Antheridialzelle beeinflusst bzw. ausgelöst wird. Doch könnte es ebenso möglich sein, daß bereits bei der inäqualen Teilung, die zunächst zur Fadenverlängerung führt, der basale Tochterkern - in Korrelation zu seiner von der des Kernes der Spitzenzelle verschiedenen plasmatischen Umgebung - schon von da her den "Auftrag" zur Stielzellbildung erhält.

Die Stielzelle geht ebenfalls aus einer inäqualen Teilung hervor. Die vesikuläre Wand, die sie von ihrer Schwesterzelle trennt, zeigt oft einen leicht gebogenen Verlauf, da ihr Abstand von der Wand des entstehenden Antheridiums im Bereich des etwa zentral gelegenen Stielzellkernes größer ist als seitlich von ihm. Ihr Verlauf ähnelt dem der Zellwand, die bei der 1. inäqualen Teilung der Stomabildung angelegt wird (Pickett-Heaps, Northcote 1966 b). Die Stielzelle ist später am Mechanismus der Spermatozoidfreisetzung aus dem reifen Antheridium beteiligt (Kny 1869, Stone 1961, Schraudolf 1969). Bei den untersuchten Entwicklungsstadien konnten zwischen der oberen und unteren Wand der Stielzelle noch keine auffallenden Unterschiede in der Wandstärke gefunden werden, wie sie lichtmikroskopisch von Schraudolf (1963) beschrieben worden sind. So ist anzunehmen, daß die basale Wand der Stielzelle im Gegensatz zu ihrer oberen Wand im weiteren Entwicklungsgang verstärkt wird.

In Anlehnung an die Disposition des Ergebnisteiles sollen hier noch einige Zellorganelle besprochen werden.

In den Plastiden von *Anemia*, die nur wenige Thylakoide und vereinzelte Ansätze einer Granabildung besitzen, erkennt man Stärkeeinschlüsse verschiedener Größe. Da die Zellen zum einen noch sehr jung sind, zum anderen die Plastiden zumindest der zentralen Zelle im weiteren Verlauf der Antheridienentwicklung bis zum fertigen Spermatozoid - schon Manton (1959) fand im Spermatozoid von *Pteridium aquilinum* Plastiden, von denen sie annahm, daß es sich um Leukoplasten handelt - nicht über das amyloplastenähnliche Stadium hinausgelangen werden, ist es bei den untersuchten Entwicklungsstadien nicht möglich zu entscheiden, ob auch in *Anemia* unterschiedliche Typen Stärke enthaltender Plastiden vor-

kommen, wie das Smith und Smith 1969 in den vegetativen Zellen des Gametophyten von *Todea barbara* feststellen konnten. Plastiden-Teilungsstadien, gekennzeichnet durch Invagination der inneren Membran, wie sie Gantt und Arnott (1963) bei *Matteuccia struthiopteris* (L.) Torado fanden, wurden nicht beobachtet. Ob die Thylakoidanordnung des Plastiden auf Abb. 17 a als Hinweis auf eine derartige, noch nicht vollendete Einstülpung der Innenmembran betrachtet werden kann, ist unsicher. Eine Auskunft darüber können nur Serienschritte geben. Doch muß hier angemerkt werden, daß die beschriebenen Beobachtungen zur Plastidenstruktur Nebenergebnisse der Untersuchungen über die Zellteilungsvorgänge sind. Der Plastid auf Abb. 19 besitzt eine Protuberanz. Eine solche Erscheinung wurde von verschiedenen Autoren beobachtet. Ragetli et al. (1970) fanden sie in degenerierenden Blattzellen und erwogen dort Strömungseffekte als Ursache. Maier und Maier (1968) fanden sie in Zellen, die im Inneren des Sporogoniufußes von *Polytrichum commune* liegen und wiesen darauf hin, daß diese Aussprossungen bei einer Schnittführung, die die Verbindung zum Plastiden nicht zeigt, von Mitochondrien kaum zu unterscheiden sind. Auch Öpik (1968) erwähnte, daß Plastiden Fortsätze besitzen können, die eine mitochondrienähnliche Struktur besitzen. Thomson et al. (1972) fanden ebenfalls - an isolierten Proplastiden von *Vicia faba* - Wurzeln - diese Protuberanzen.

Häufiger treten Plastiden mit Einschnürungen auf, wofür der Plastid auf Abb. 54 ein extremes Beispiel ist. Es ist nicht auszuschließen, daß es sich hierbei um ein Teilungsstadium handelt. Diese Annahme steht nicht - wie man zunächst vielleicht vermuten könnte - im Widerspruch zu der vorher diskutierten Teilungsform durch Invagination der inneren Membran, denn Untersuchungen von Cran und Possingham (1972) an Spinatchchloroplasten deuten auf die Möglichkeit des Vorkommens beider Formen in einem Gewebe hin, während Diers (1966) allerdings Invaginationen wie auch Einschnürungen an den jungen Plastiden von *Sphaerocarpos donnellii* L. beobachtete, aber den Zusammenhang der erstgenannten Erscheinungsform eines Plastiden mit dessen Teilung bezweifelt.

Als sehr ribosomenreich erscheint die Zentralzelle. Das ist nicht erstaunlich, wenn man an ihre weiteren Leistungen, nämlich einige Mitosen - und damit verbunden - die Ausbildung der Spermatozoide, denkt. Schon im Kapitel über Material und Methoden war darauf hingewiesen worden, daß bei Simultanfixierung häufiger Polysomen beobachtet werden konnten (Abb. 60). Ob diese unterschiedliche Häufigkeit rein zufälliger Natur ist, einfach gegeben durch die Tatsache, daß wesentlich mehr Antheridien nach dieser Fixierungsmethode behandelt und beobachtet worden sind als solche, bei denen die sukzedane Fixierung angewendet wurde, oder ob sich hier die Natur des Fixierungsgemisches, das z.B. Polysomen gut erhalten soll (Franke et al. 1969), auswirkt, sei offengelassen, wenn auch mehr für die letztgenannte Möglichkeit spricht.

Bei beiden Fixierungen treten, wenn auch selten, Ribosomenhelices auf (Abb. 61, 62). Über diese Ribosomenanordnung liegt eine große Anzahl von Veröffentlichungen vor, doch herrscht über ihre Funktion Unklarheit. Es besteht kein Anlaß, an dieser Stelle die ganze diesbezügliche Literatur zu zitieren. Nur soviel sei gesagt, daß die Helices häufig in embryonalen oder sich differenzierenden Zellen gefunden werden und daß die Deutungsversuche der Funktion dieser besonderen Ribosomenanordnung von der Annahme einer Speicherfunktion (Wooding 1968) über die Feststellung, daß sie charakteristisch für aktiv Protein synthetisierende Zellen (Erlandson, Harven 1971) und an der Proteinsynthese beteiligt seien (Galavazi 1971) bis hin zur Möglichkeit eines "spurious effect" (Anderson-Cedergreen et al. 1967) reichen. Mögliche Gründe für das seltene Auftreten könnten die Richtung der Schnittebene oder eine ganz spezifische Aufgabe sein (Tauschel, Drews 1969).

Kurz sei auf den elektronendichten Vakuoleninhalt hingewiesen, der sowohl als granulärer Saum den Tonoplasten begleitet als auch in größeren Anhäufungen am Rande und im Vakuoleninneren auftritt. Eventuell handelt es sich dabei um Gerbstoffe, wie das bei anderen Objekten vermutet wird (Ziegler, Lüttge 1966, Murmanis et al. 1967, Schnepf 1968). Zwar bieten auch Vakuolen mit "protein bodies" ein ähnliches Bild, (z.B. Shumway et al.

1972), doch da Lejler (1967) feststellte, daß die Prothallien von *Anemia phyllitidis* chlorogensäurereich sind, liegt es nahe anzunehmen, daß es sich beim elektronendichten Inhalt in den Vakuolen unserer Prothallien um Gerbstoffe handelt.

Eine vom ER ausgehende Bildung von Vakuolen, wie sie Mesquita (1969) und Risueno et al. (1970) beschrieben, wurde in den bereits stark vakuolisierten Zellen nicht beobachtet. Vereinzelt konnten Anordnungen ähnlich denen gefunden werden (Abb. 64), die es möglich erscheinen lassen, daß auch der Golgiapparat am Vorgang der Vakuolisierung beteiligt sein kann (Pickett-Heaps 1967 b).

In den Prothallienzellen von *Polypodium* sind des öfteren an den Wänden vesikuläre Körper mit ebenfalls vesikulärem oder myelinartig geschichtetem Inhalt zu sehen. Über derartige Gebilde wird in der Literatur häufig berichtet, wobei die Ansichten der Autoren über Herkunft und eventuelle Funktion weit auseinandergehen. Während Marchant und Robards (1968) die "paramural bodies" bereits in verschiedene Gruppen einteilen, gibt es andere Autoren, die auf die mögliche Artefaktnatur dieser Erscheinung hinweisen (z.B. Falk 1969, Schnepf 1969, Bowes 1972). Auch Kiermayer schließt das nicht aus (1970), da sich die "Lomasomen" als fixierungsabhängig erweisen, während Bowes (1969) allgemein das Auftreten von Myelinfiguren in Zusammenhang mit der besseren Erhaltung dieser labilen Strukturen mit Glutaraldehyd-Osmium-Fixierung bringt. Als mögliche Funktion der Lomasomen erwägt man eine Beziehung zum Transport von Wandmaterial (z.B. Esau et al. 1966), doch findet man nicht immer einen Zusammenhang dieser Strukturen mit dem Wandwachstum (Earton 1968, Fowke et al. 1969). Mahlberg (1972) berichtet im Zusammenhang mit "secondary vacuolation" von auch vesikelgefüllten Plasmamembraninvaginationen in die Vakuole, für die ein lichtmikroskopisches Pendant vorliegt.

Im Gegensatz zu *Polypodium* finden sich in den Prothallien von *Anemia* nicht diese größeren "Lomasomen", sondern einzelne Vesikel zwischen Plasmalemma und Wand, über deren Herkunft und Funktion nichts gesagt werden kann. Myelinfiguren im Plasma wie auch in der Vakuole werden bei simultanfixierten Zellen nicht beobachtet. Zumindest ein Teil der bei unseren sukzedan fixier-

ten Zellen beobachteten Myelinfiguren - vor allem in der Vakuole (Schnepf 1968, Fineran 1971, Williams et al. 1971) - dürfte durch Fixierungsprozesse hervorgerufen worden sein.

Die Herkunft der besonders im Bereich der entstehenden Zellwand auftretenden vesikulären Körper mit vorwiegend plasmatischem Inhalt ist unklar (Abb. 22, 67-69), doch dürfte, da sie bei beiden Fixierungen auftreten und ihre Umgebung gut erhalten ist, die Möglichkeit einer Artefaktbildung weitgehend ausgeschlossen werden. Eventuell handelt es sich bei ihnen - wie auch z.T. bei den Vakuolen mit membranösem Inhalt - um Vakuolen mit lytischer Funktion (Buvat in Reinert, Ursprung 1971).

Ob Einschlüsse in die Zellwand, wie sie die Abbildungen 65 und 66 zeigen, Kunstprodukte darstellen, oder ob sie nur selten auftreten und dementsprechend noch seltener zu finden sind, muß offengelassen werden. Einen membranösen Einschluß in der Zellwand, der dem auf Abb. 65 sehr ähnelt, ist in der Arbeit von Carothers (1972, Abb. 1) über *Elasia pusilla* L. wiedergegeben, doch findet er im Text keine Erwähnung. Da abzuwarten ist, inwieweit die von Carothers referierten Ergebnisse zu erhärten und zu deuten sind, kann nur die Ähnlichkeit beider Strukturen erwähnt werden, ohne eine Beurteilung damit zu verbinden. Einschlüsse zwischen dem Plasmalemma der vegetativen und dem der generativen Zelle - allerdings anderen Aussehens als die bei Anemia beobachteten - finden Coccuci und Jensen (1969) regelmäßig im Pollen von *Epidendrum scutella*.

Es werden Grüppchen kleiner Vesikel beobachtet, die bisweilen in einem Bereich liegen, der dichter als das umgebende Plasma erscheint. Bei höherer Vergrößerung erkennt man häufig eine dreischichtige Membran, die den einzelnen Vesikel begrenzt. Zunächst wurden sie als sicheres, im Bereich der basalen Wand der Spitzenzelle auftretendes Anzeichen einer Glockenzellbildung betrachtet. Doch zeigte sich später, daß ihr Vorkommen nicht auf die Basalwand beschränkt ist.

Ähnliche Vesikel beschrieben u.a. Albersheim (1965), Sievers (1965, 1967) und Anton-Lamprecht (1967), doch besitzen die vom letztgenannten Autor bei *Epilobium*-Bastarden beschriebenen einen

kontrastreichen Zentralkörper, der bei Anemia nicht feststellbar ist. Außerdem erscheint bei Anton-Lamprecht die äußerste Lage der Membran als die am stärksten kontrastierte, verhält sich also gerade umgekehrt wie das Plasmalemma. Trotzdem schließt sie die Möglichkeit nicht aus, daß die Membran ihrer "sphärischen Partikel" mit dem Plasmalemma homolog ist. Ein Vergleich mit Viren ergibt keine Übereinstimmung. Albersheim (1965) stellt bei seiner Untersuchung der Wurzelspitzen von *Allium cepa* fest, daß hier die kleinen "particles or spherical vesicles", sofern sie zu beobachten sind, nicht in sich teilenden Zellen auftreten.

In seiner späteren Arbeit kann auch Sievers (1967) erkennen, daß die Mikrovesikel im Rhizoid von *Chara foetida* von einer Elementarmembran begrenzt werden, wobei die Kontrastierbarkeit der von Anton-Lamprecht beschriebenen Membran gerade entgegengesetzt und zumindest in der Zone I des Rhizoids kein Unterschied in der Dimension zwischen Golgivesikel- und Mikrovesikelmembran und dem Plasmalemma festzustellen ist. In der Diskussion, in der Sievers auch ausführlich auf ähnliche Strukturen eingeht, die andere Autoren beobachtet haben, faßt er die Möglichkeit ins Auge, daß es sich bei den Mikrovesikeln von *Chara* um coated vesicles handeln könnte, zumal die Vesikel in Plasmalemmanähe eine ähnliche Strukturierung erkennen lassen, doch werden als Ursprungsort die multivesikulären Körper nicht ausgeschlossen. Er weist auf die verschiedenen Vesikelarten hin, die Whaley et al. (1966) im Zusammenhang mit der Zellplattenbildung beobachten konnten und nimmt als Funktion der Mikrovesikel die Lieferung von Substanzen an, die für den Wandaufbau benötigt werden und die von denen, die die Golgivesikel liefern, verschieden sind.

Es ist bei der Betrachtung von fixiertem Material, das ja nur den Zustand im Augenblick der Fixierung wiedergibt, sehr schwer und mit großer Unsicherheit verbunden, Rückschlüsse auf dynamische Ereignisse zu ziehen. So kann man nicht entscheiden, ob die Gruppen der Mikrovesikel an oder in Nähe der Basalwand gleicher Herkunft und Funktion sind wie diejenigen, die in der Nähe der entstehenden Zellplatte auftreten und ob diese vielleicht den von Whaley et al. (1966) schon im Kernbereich während der Metaphase beobachteten und als Derivate des Golgiapparates ge-

deuteten Vesikeln entsprechen. Außerdem wäre es interessant zu wissen, ob ein Zusammenhang mit vereinzelt im Kern erkannten Vesikeln besteht. Einmal konnten diese Vesikel auch bei der Bildung der Stielzelle beobachtet werden.

Bei der Lösung der Frage nach Art und Funktion der Vesikel können deskriptive Untersuchungen nicht weiterhelfen, sondern erst enzymatische Reaktionen und eventuell die Autoradiographie dürfen Auskunft über Ursprung und Funktion der Vesikel geben. Diese Methoden werden auch herangezogen werden müssen, wenn Prozesse erfaßt werden sollen, die an der Differenzierung beteiligt sind und dieser vorausgehen oder sie begleiten und die sich nicht unmittelbar im ultrastrukturellen Bereich ausdrücken. So konnte z.B. Kiermayer (1970) bei der Untersuchung der Cytomorphogenese von *Micrasterias denticulata* Bréb. keine Anordnung von Organellen und Vesikeln feststellen, die im Zusammenhang mit dem Anlagerungsmuster stehen könnte. Jones (1972) gelang es nicht, einen Hinweis darauf zu finden, daß die von ihm untersuchte β -1,3-Glucanase in Vesikeln gebunden vorliegt.

Abschließend bleibt festzustellen, daß rein morphologische Untersuchungen zwar Aufschluß über das Verhalten von Prothallienzellen im Laufe der Antheridienbildung geben können, daß aber versucht werden muß, mit anderen Methoden eine Musterbildung vorbereitende Ereignisse zu erfassen. Dafür in Frage kommen - gemäß der Problemstellung - enzymatische Reaktionen wie auch Autoradiographie.

V. Zusammenfassung

- 1.) Antheridien von *Polypodium crassifolium* und die Bildung der Antheridien von *Anemia phyllitidis* wurden elektronenmikroskopisch untersucht.
- 2.) Das Vorkommen von Plasmodesmen an der Basalwand zwischen spermatogenem Gewebe und vegetativer Zelle bzw. Spore und das Zellmuster eines teratologischen Antheridiums von *Polypodium crassifolium* deuten auf eine von Anfang an trichterförmig angelegte untere Ringzelle hin.
- 3.) Mit der asymmetrischen Teilung, die zur Bildung von Glocken- und Zentralzelle von *Anemia phyllitidis* führt, sind Verlagerung und ungleichmäßige Verteilung von Organellen auf die Tochterzellen verbunden.
- 4.) Die zur Musterbildung des Antheridiums von *Anemia phyllitidis* führende Zellteilungsfolge Glockenzelle-Stielzelle-Dekkelzelle stimmt mit den vorliegenden lichtmikroskopischen Beobachtungen überein.
- 5.) Einige Zellorganelle werden besprochen, wobei u.a. auf Ansammlungen von Mikrovesikeln an der Basalwand der Spitzenzelle während der Glockenzellbildung hingewiesen wird. Es wird festgestellt, daß die rein morphologischen Untersuchungsergebnisse mit Hilfe anderer Methoden vervollständigt werden müssen.

VI. Literaturverzeichnis

- ALBERSHEIM, P., 1965. A Cytoplasmic Component Stained by Hydroxylamine and Iron. *Protoplasma* 60,131f.
- ANDERSSON-CEDERGREN, E., KARLSSON, U., 1967. Polyribosomal Organization in Intact Intrafusil Muscle Fibers. *J. Ultrastruct.Res.*19,409f.
- ANTON-LAMPRECHT, I., 1967. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Plasmonabänderungen von *Epilobium-Bastarden*. I. Cytologische Untersuchungen zur Feinstruktur und Häufigkeit bisher unbekannter plasmatischer Partikeln in den Abänderungen der irreguläre-Gruppe und einigen anderen Plasmotypen. *Protoplasma* 64,267f.
- AVERS, Ch. J., 1963. Fine structure studies of Phleum root meristem cells. II. Mitotic asymmetry and cellular differentiation. *Amer.J.Bot.* 50,140f.
- BARTON, R., 1968. Autoradiographic Studies on Wall Formation in *Chara*. *Planta* 82,302f.
- BELL, P.R., DUCKETT, J.G., MYLES, D., 1971. The Occurrence of a Multilayered Structure in the Motile Spermatozooids of *Pteridium aquilinum*. *J.Ultrastruct.Res.*34,181f.
- BIERHORST, D.W., 1966. The fleshy, cylindrical, subterranean gametophyte of *Schizaea melanesica*. *Amer.J.Bot.*53,123f.
- BONNET Jr., E.T., 1969. Cortical Cell Death During Lateral Root Formation. *J.Cell Biol.*40,144f.
- BOUCK, G.B., 1963. An Examination of the Effects of Ultracentrifugation on the Organelles in Living Root Tip Cells. *Amer. J.Bot.*50,1046f.
- BOWES, B.G., 1969. Electron Microscopic Observations on Myelin-like Bodies and Related Membranous Elements in *Glechoma hederacea* L. *Z.Pflanzenphysiol.*60,414f.
- BOWES, B.G., 1972. Fine-Structural Observations on Necrotic Adventitious Root Apices in *Glechoma hederacea* L. *Protoplasma* 74,41f.
- BURGESS, J., 1970 a. Microtubules and Cell Division in the Microspore of *Dactylorhiza fuschii*. *Protoplasma* 69,253f.
- BURGESS, J., 1970 b. Interactions between Microtubules and the Nuclear Envelope during Mitosis in a Fern. *Protoplasma* 71, 77f.
- BURGESS, J., 1972. The Occurrence of Plasmodesmata-Like Structures in a Non-Division Wall. *Protoplasma* 74,449f.

- BURGESS, J., NORTHCOTE, D.H., 1967. A function of the preprophase band of microtubules in *Phleum pratense*. *Planta* 75,319f.
- BUVAT, R., 1971. Origin and Continuity of Cell Vacuoles. In *Origin and Continuity of Cell Organelles*, edit. by J. Reinert, H. Ursprung, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1971, S.144f.
- CAROTHERS, E.B., 1972. Studies of Spermatogenesis in the Hepaticae. III. Continuity between Plasma Membrane and Nuclear Envelope in Androgonial Cells of *Blasia*. *J.Cell Biol.* 52, 273f.
- CAULFIELD, J.B. in Juniper, B.E. et al. 1970. Techniques for plant electron microscopy. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh, S.5f.
- COCUCCI, A., JENSEN, W.A., 1969. Orchid Embryology: Pollen Tetrads of *Epidendrum scutella* in the Anther and on the Stigma. *Planta* 84, 215f.
- CRAN, D.G., POSSINGHAM, J.V., 1972. Two Forms of Division Profile in Spinach Chloroplasts. *Nature New Biol.* 235,142.
- DAVIE, J.H., 1951. The development of the antheridium in the polypodiaceae. *Amer.J.Bot.* 38,621f.
- DIERS, L., 1965. Elektronenmikroskopische Beobachtungen zur Archegonienentwicklung des Lebermooses *Sphaerocarpus donnellii* Aust. Die Entwicklung des jungen Archegons bis zum Stadium der fertig ausgebildeten sekundären Zentralzelle. *Planta* 66,165f.
- DIERS, L., 1966. On the plastids, mitochondria, and other cell constituents during oögenesis of a plant.*J.Cell Biol.* 28, 527f.
- DUCKETT, J.G., 1972. Pentagonal Arrays of Ribosomes in Fertilized Eggs of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *J.Ultrastruct. Res.* 38,390f.
- DUCKETT, J.G., BELL, P.R., 1971. Studies on fertilization in archegoniate plants. I. Changes in the structure of the spermatozoids of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn during entry into the archegonium. *Cytobiologie* 4,421f.
- ERLANDSON, R.A., HARVEN, E.de, 1971. The Ultrastructure of Synchronized He La Cells. *J.Cell Sci.* 8,353f.
- ESAU, K., CHEADLE, V.I., GILL, R.H., 1966. Cytology of Differentiating Tracheary Elements.II. Structures associated with Cell Surfaces. *Amer.J.Bot.* 53,765f.
- ESAU, K., GILL, R.H., 1969. Structural relations between nucleus and cytoplasm during mitosis in *Nicotiana tabacum* mesophyll. *Can.J.Bot.* 47,581f.

- FALK, H., 1969. Lomasomen? Ber.Dtsch.Bot.Ges.82,427f.
- FINERAN, B.A., 1971. Ultrastructure of Vacuolar Inclusions in Root Tips. Protoplasma 72,1f.
- FOWKE, L.C., SETTERFIELD, G., 1969. Multivesicular structures and cell wall growth.Can.J.Bot.47,1873f.
- FRANKE, W.W., KRIEN, S., BROWN, R.M. MALCOLM, 1969. Simultaneous Glutaraldehyde-Osmium Tetroxide Fixation with Postosmication. An Improved Fixation Procedure for Electron Microscopy of Plant and Animal Cells. Histochemie 19,162f.
- FREDERICK, S.E. et al., 1968. Fine-Structural Characterization of Plant Microbodies. Planta 81,229f.
- GALAVAZI, G., 1971. Identification of Helical Polyribosomes in Sections of Mature Skeletal Muscle Fibers. Zellforsch. 121,531f.
- GANTT, E., ARNOTT, H.J., 1963. Chloroplast division in the gametophyte of the fern *Matteuccia struthiopteris* (L.) Torado. J.Cell Biol. 19,446f.
- GOEBEL, K., 1930. Organographie der Pflanzen insbesondere der Archegoniaten und Samenpflanzen. 2.Teil Bryophyten - Pteridophyten. Gustav Fischer, Jena. S.1050.
- HAWKER, L.E., GOODAY, M.A., 1969. Fusion, subsequent swelling and final dissolution of the apical walls of the progametangia of *Rhizopus sexualis* (Smith) Callen: an electron microscope study. New Phytol.68,133f.
- HESLOP-HARRISON, J., 1968. Synchronous pollen mitosis and the formation of the generative cell in massulate orchids. J.Cell Sci.3,457f.
- HUMBERT, C., GUYOT, M., 1969. Le développement des stomates adétostomes d'*Anemia rotundifolia* Schrad. (Famille de Schizéacées). C.R.Acad.Sc. Paris, 268,283f., Série D.
- JONES, R.L., 1972. Fractionation of the Enzymes of the Barley Aleurone Layer: Evidence for a Soluble Mode of Enzyme Release. Planta 103,95f.
- KAUFMAN, P.B., et al., 1970. Ultrastructural Studies on Stomata Development in Internodes of *Avena sativa*.Amer.J.Bot.57,33f.
- KIERMAYER, O., 1970. Untersuchungen der Cytomorphogenese von *Micrasterias denticulata* Bréb.Protoplasma 69,97f.
- KNY, L., 1869. Über den Bau und die Entwicklung des Farn-Antheridioms. Aus dem Monatsbericht d.K.A.d.W. Berlin, Mai 1869.
- KÜSTER, E., 1956. Die Pflanzenzelle, VEB Gustav Fischer, Jena, S.127f.

- LAFONTAINE, J.G., CHOUINARD, L.A., 1963. A correlated light and electron microscope study of the nucleolar material during mitosis in *Vicia faba*. *J. Cell Biol.* 17, 167f.
- LA FOUNTAIN, J.R., Jr., 1972. An assoziation between microtubules and aligned mitochondria in *Nephrotoma* spermatoocytes. *Exptl. Cell Res.* 71, 325f.
- LEGLER, KARLA, 1967. Untersuchungen zur Methodik der RNS-Extraktion und Analyse der Nukleotidzusammensetzung der RNS aus Prothallien von *Anemia phyllitidis* L. Diplomarbeit, Gießen.
- MAHLBERG, P., 1972. Further Observations on the Phenomenon of Secondary Vacuolation in Living Cells. *Amer. J. Bot.* 59, 172f.
- MAIER, K., MAIER, U., 1968. Zur Frage einer Neubildung von Mitochondrien aus Plastiden. *Protoplasma* 65, 239f.
- MANTON, I., 1959. Observations on the Microanatomy of the Spermatozoid of the Bracken Fern (*Pteridium aquilinum*). *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.* 6, 413f.
- MARCHANT, R., ROBARDS, A.W., 1968. Membrane Systems Associated with the Plasmalemma of Plant Cells. *Ann. Bot.* 32, 457f.
- MESQUITA, J.F., 1969. Electron Microscope Study of the Origin and Development of the Vacuoles in Root-Tip Cells of *Lupinus albus* L. *J. Ultrastruct. Res.* 26, 242f.
- MICKEL, J.T., LERSTEN, N.R., 1967. Floating Stomatas (Adetostomy) in Ferns: Distribution and Ontogeny. *Amer. J. Bot.* 54, 1181f.
- MIZUKAMI, J., GALL, J., 1966. Centriole replication. II. Sperm formation in the fern, *Marsilea*, and the cycad, *Zamia*. *J. Cell Biol.* 29, 97f.
- MURMANIS, L., EVERT, R.F., 1967. Parenchyma cells of secondary phloem in *Pinus strobus*. *Planta* 73, 301f.
- ÖPIK, H., 1968. In *Plant Cell Organelles*, edit. by J.B. Pridham. Academic Press London und New York. S. 56.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1967 a. Ultrastructure and Differentiation in *Chara* sp. II. Mitosis. *Aust. J. biol. Sci.* 20, 883f.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1967 b. Further Observations on the Golgi Apparatus and Its Functions in Cells of the Wheat Seedling. *J. Ultrastruct. Res.* 18, 287f.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1968. Ultrastructure and Differentiation in *Chara* sp. III. Formation of the Antheridium. *Aust. J. biol. Sci.* 21, 255f.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1969. Preprophase microtubule bands in some abnormal mitotic cells of wheat. *J. Cell Sci.* 4, 397f.

- PICKETT-HEAPS, J.D., NORTHCOTE, D.H., 1966 a. Organization of Microtubules and Endoplasmic Reticulum during Mitosis and Cytokinesis in Wheat Meristems. J.Cell Sci.1,109f.
- PICKETT-HEAPS, J.D., NORTHCOTE, D.H., 1966 b. Cell division in the formation of the stomatal complex of the young leaves of wheat. J.Cell Sci.1,121f.
- QUATRANO, R.S., 1972. An ultrastructural study of the determined site of rhizoid formation in *Fucus* zygotes. Exptl. Cell Res.70,1f.
- RAGETLI, H.W.J., WEINTRAUB, M., LO, L., 1970. Degeneration of leaf cells resulting from starvation after excision. I. Electron microscopic observations. Can.J.Bot.48,1913f.
- RISUENO, M.C. et al., 1970. Vacuolation in the Cytoplasm of Plant Cells. Cytologia 35,609f.
- ROBARDS, A.W., HUMPHERSON, P.G., 1967. Microtubules and Angiosperm Bordered Pit Formation. Planta 77,233f.
- ROBERTS, K., NORTHCOTE, D.H., 1970. The structure of sycamore callus cells during division in a partially synchronized suspension culture. J.Cell Sci.6,299f.
- ROLAND, F., 1971. Données cytochimiques sur la formation de la paroi générative dans le pollen de *Trollius chinensis* Bunge. J.Microscopie 12,145f.
- SADLEIR, R., 1902. In A. Engler, K. Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten insbesondere der Nutzpflanzen. I₄: Pteridophyta. Leipzig 1902. S.24f.
- SANGER, J.M., JACKSON, W.T., 1971. Fine structure study of pollen development in *Haemanthus katherinae* Baker. I. Formation of vegetative and generative cells. J.Cell Sci.8,289f.
- SCHNEPF, E., 1968. Zur Feinstruktur der schleimsezernierenden Drüsenhaare auf der Ochrea von *Rumex* und *Rheum*. Planta 79,22f.
- SCHNEPF, E., 1969. Über den Feinbau von Öldrüsen. IV. Die Ölgänge von Umbelliferen: *Heracleum sphondylium* und *Dorema ammoniacum*. Protoplasma 67,375f.
- SCHRAUDOLF, H., 1962. Die Wirkung von Phytohormonen auf Keimung und Entwicklung von Farnprothallien. I. Auslösung der Antheridienbildung und Dunkelkeimung bei Schizaeaceen durch Gibberellinsäure. Biol.Zbl.81,731f.
- SCHRAUDOLF, H., 1963. Einige Beobachtungen zur Entwicklung der Antheridien von *Anemia phyllitidis*. Flora 153,282f.

- SCHRAUDOLF, H., 1966. Die Wirkung von Phytohormonen auf Keimung und Entwicklung von Farnprothallien. II. Mitteilung. Analyse der Wechselbeziehung zwischen Gibberellinkonzentration, Antheridienbildung und physiologischer Alter der Prothalliumzellen von *Anemia phyllitidis*. *Planta* 68, 335f.
- SCHRAUDOLF, H., 1967. Die Steuerung der Antheridienbildung in *Polypodium crassifolium* L. (*Pessopteris crassifolia* Underw. and Maxon) durch Licht. *Planta* 76, 37f.
- SCHRAUDOLF, H., 1968. Einige Beobachtungen zur Ausbildung des Antheridiums von Polypodiaceen. *Flora* 157, 379f.
- SCHRAUDOLF, H., 1968. noch unveröffentlicht.
- SCHRAUDOLF, H., 1969. *Anemia phyllitidis* (Leptosporangiateae). Entwicklung und Funktion von Antheridium und Spermatozoiden. Publ.Wiss.Film,Bd.A II, H.6.
- SHUMWAY, L.K., CHENG, V., RYAN, C.A., 1972. Vacuolar Protein in Apical and Flower-Petal Cells. *Planta* 106, 279f.
- SIEVERS, A., 1965. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur geotropischen Reaktion. I. Über Besonderheiten im Feinbau der Rhizoide von *Chara foetida*. *Z.Pflanzenphysiol.* 53, 193f.
- SIEVERS, A., 1967. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur geotropischen Reaktion. II. Die polare Organisation des normal wachsenden Rhizoids von *Chara foetida*. *Protoplasma* 64, 225f.
- SIESE, P., 1969. Fortschritte der Botanik, 31. Bd., 32.
- SMITH, H.M., SMITH, D.S., 1969. An Electron-microscopic Study of the Starch-containing Plastids in the Fern *Todea barbara*. *J.Cell Sci.* 4, 211f.
- SPREY, B., LICHTENTHALER, H.F., 1966. Zur Frage der Beziehungen zwischen Plastoglobuli und Thylakoidgenese in Gerstenkeimlingen. *Z.Naturforschg.* 21b, 697f.
- SPURR, A.R., 1969. A Low-Viscosity Epoxy Resin Embedding Medium for Electron Microscopy. *J.Ultrastruct.Res.* 26, 31f.
- STEWART, K.D., GIFFORD, E.M.Jr., 1967. Ultrastructure of the Developing Megaspore Mother Cell of *Ginkgo biloba*. *Amer. J.Bot.* 54, 375f.
- STONE, I.G., 1961. The gametophytes of the Victorian Blechnaceae. I. *Blechnum nudum* (Labill.) Luer. *Aust.J.Bot.* 9, 20f.
- STONE, I.G., 1962. The ontogeny of the antheridium in some leptosporangiate ferns with particular reference to the funnel-shaped wall. *Aust.J.Bot.* 10, 76f.
- STRASBURGER, E., 1880. Zellbildung und Zellteilung, S.127f. Gustav Fischer, Jena.

- TAINTER, F.Y., 1971. The Ultrastructure of *Arceuthobium pusillum*. *Can.J.Bot.*49,1615f.
- TAUSCHEL, H.D., DREWS, G., 1969. Zum Vorkommen helixförmig angeordneter Ribosomen bei *Rhodopseudomonas palustris*. *Arch. Mikrobiol.*64,377f.
- THOMSON, W.W., FOSTER, P., LEECH, R.M., 1972. The Isolation of Proplastids from Roots of *Vicia faba*. *Plant Physiol.*49,270f.
- TOURTE, Y., 1971. Quelques aspects cytologiques infrastructuraux au cours de la fécondation chez le *Pteridium aquilinum* L. *C.R.Acad.Sc.Paris*,272,1236f., Série D.
- TOURTE, Y., HUREL-PY, G., 1967. Ontogénie et ultrastructure de l'appareil cinétique des spermatozoides du *Pteridium aquilinum* L. *C.R.Acad.Sc.Paris*,265, 1289f., Série D.
- VAZART, J., 1956. Étude cytologique de la reproduction sexuée chez quelques Ptéridophytes. Thèse Paris et *Rev.Cytol. Biol.végét.*17,233f.
- VAZART, J., 1964. Données sur le développement et l'infrastructure de l'appareil cinétique dans les spermatides du *Polypodium vulgare*. *C.R.Acad.Sc.Paris*,259,631f., Série D.
- VENABLE, J.H., COGGESHALL, R., 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J.Cell Biol.*25,407f.
- WHALEY, W.G., DAUWALDER, M., KEPHART, J.E., 1966. The Golgi Apparatus and an Early Stage in Cell Plate Formation. *J.Ultrastruct.Res.*15,169f.
- WHALEY, W.G., DAUWALDER, M., KEPHART, J.E., 1971. Assembly, Continuity, and Exchanges in Certain Cytoplasmic Membrane Systems. In *Origin and Continuity of Cell Organelles*, edit. by J.Reinert, H.Ursprung, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1971, S.7,Abb.5a.
- WILLIAMS, M.E., MOZINGO, H.N., 1971. The fine structure of the trigger hair in Venus' Flytrap. *Amer.J.Bot.*58,532f.
- WOODING, F.B.P., 1968. Ribosome helices in mature cells. *J. Ultrastruct.Res.*24,157f.
- WRISCHER, M., 1967. Kristalloide im Plastidenstroma. I. Elektronenmikroskopisch-Cytochemische Untersuchungen. *Planta* 75,309f.
- YATSU, L.Y., JACKS, T.J., HENSARLING, T.P., 1971. Isolation of Spherosomes (Oleosomes) from Onion, Cabbage, and Cottonseed Tissues. *Plant Physiol.* 48,675f.
- ZEIGER, E., 1971. Organelle distribution and cell differentiation in the formation of stomatal complexes in barley. *Can.J. Bot.*49,1623f.
- SEIDLER, H., LÜTTGE, U., 1966. Die Salzdrüsen von *Limonium vulgare*. I. Mitteilung: Die Feinstruktur. *Planta* 70,193f.

Nachtrag

MAITRA, S.C., DEEPESH, N.De, 1971. Role of Microtubules in
Secondary Thickening of Differentiating Xylem Element.
J. Ultrastruct. Res. 34, 15f.

Danksagung

Für die mir während der Durchführung dieser Arbeit zuteil gewordene Unterstützung und Förderung danke ich Herrn Professor Dr. Schraudolf, Botanisches Institut der Justus Liebig-Universität, Gießen.

Herrn Professor Dr. von Denffer, dem Direktor des Botanischen Institutes, danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Die vorliegende Arbeit wurde vom September 1968 bis August 1972 im Strahlenzentrum der Justus Liebig-Universität durchgeführt. Ich möchte an dieser Stelle dem Strahlenzentrum (Institut für Biophysik) für die Zurverfügungstellung der elektronenmikroskopischen Einrichtung danken.

Lebenslauf

Am 9. Mai 1941 wurde ich in Komotau als Tochter des Johannes Richter und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Kiefer geboren. 1945 kamen wir nach Gera. Dort besuchte ich die Grundschule von 1947 bis 1955 und bis Ende 1956 die Oberschule. Von 1957 bis 1959 wohnten meine Familie und ich in Friesenheim/Baden. In diese Zeit fiel meine Lehrzeit als Zahnärztliche Helferin. Im Anschluß daran besuchte ich bis 1962 das Max Planck-Gymnasium in Lahr. Nach dem Abitur begann ich in Freiburg das Biologiestudium. Das Examen als Diplombiologin legte ich 1968 in Gießen ab. Seit Ende 1968 arbeite ich an meiner Doktorarbeit.

Zusammenfassung in Bildgruppen

Sofern nicht anders vermerkt, stammen die Abbildungen aus Schnitten von Prothallien, die sukzedan, d.h. mit Glutaraldehyd und anschließend mit OsO_4 (siehe Kapitel Material und Methoden) fixiert worden sind.

Polypodium crassifolium

- Abb. 1: Längsschnitt durch ein Antheridium. Die Ansatzstelle der unteren Ringzelle uRZ an der Basalwand BW liegt außerhalb der Schnittebene. Glockenzelle GZ, spermatogenes Gewebe SG x 3 500
- Abb. 2: Ausschnitt aus einem Antheridium. Deckelzelle DZ, obere Ringzelle oRZ, Plastid P, Mitochondrium M, Vakuole V, Kern N, flächig angeschnittene Wand bei x. x 18 000

Polypodium crassifolium

- Abb. 3-6: Basalwand des Antheridiums mit Ansatz der trichterförmigen Innenwand tW der unteren Ringzelle uRZ.
- Abb. 3: Plasmodesmos PD. x 21 000
- Abb. 4: Einschlüsse in der Zellwand x. x 31 000
- Abb. 5: Wand im spermatogenen Gewebe W. x 32 000
- Abb. 6: x 32 000

Polypodium crassifolium

- Abb. 7: Längsschnitt durch ein teratologisches Antheridium. Glockenzelle GZ, stark asymmetrische untere Ringzelle uRZ, Zentralzelle ZZ. x 3 200
- Abb. 8: Längsschnitt durch das teratologische Antheridium, aber außerhalb der Ansatzstelle der Wand der unteren Ringzelle uRZ an der Basalwand BW. x 6 400

Polypodium crassifolium

- Abb. 9+10: Ausschnitte aus dem teratologischen Antheridium. Basalwand BW, untere Ringzelle uRZ.
- Abb. 9: Den Einschlüssen im Bereich der Wandverdickung W ähnelnde Struktur bei xx. x 56 000
- Abb. 10: Vesikulärer Körper vK. x 15 000

Polypodium crassifolium

- Abb. 11: Plasmodesmos PD in der Basalwand BW im Bereich der "Trichterbasis". Trichterförmige Innenwand tW der unteren Ringzelle uRZ. x 34 000
- Abb. 12: Schräggeschnittene Basalwand eines Antheridiums (Ausschnitt). Quergeschnittene Plasmodesmen PD, von Plasmalemma Pl ausgekleidet. Mikrotubuli Mt. x 70 000
- Abb. 13: Ausschnitt aus einem schräg angeschnittenen Antheridium. Basalwand BW, untere Ringzelle uRZ, Zentralzelle ZZ, Golgiapparat G, Mikrotubuli Mt, vesikulärer Körper vK. x 22 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 14: Längsschnitt durch ein Antheridium. Glockenzelle GZ, Zentralzelle ZZ, vesikuläre Basalwand ZP der Stielzelle SZ. Simultan fixiert. x 4 800
- Abb. 15: Frühes Stadium der Glockenzellbildung. Vegetative Zelle VZ, zukünftige Glockenzelle GZ, zukünftige Zentralzelle ZZ, Zellplatte ZP, Zellkern N. Simultan fixiert. x 6 400

Anemia phyllitidis

- Abb. 16: Längsschnitt durch die Spitzenzelle eines Prothalliums. Frühes Stadium der Glockenzellbildung (die Kerne N liegen zum größten Teil außerhalb der Schnittebene). Zellplatte ZP, Mitochondrium M, Plastid P, Stärkekorn S, Vakuole mit elektronendichtem Inhalt V. Simultan fixiert. x 8 000
- Abb. 17: Fortgeschrittenes Stadium der Glockenzellbildung. Zellplatte ZP, Zentralzelle ZZ, Glockenzelle GZ, Basalwand des Antheridiums BW. Simultan fixiert. x 9 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 17a: Ausschnitt aus Abb. 17. Der Kern N der Zentralzelle ist z.T. flächig angeschnitten, so daß Kernporen NP in Aufsicht zu sehen sind. Plastid P mit Stärkekörnern S, quer verlaufendes Thylakoid T, Endoplasmatisches Retikulum ER, Zellplatte ZP. Simultan fixiert. x 21 000
- Abb. 18: Glockenzellbildung (Ausschnitt). Kern N der Zentralzelle, Mikrotubuli Mt, Zellplatte ZP, Basalwand des Antheridiums BW, Golgiapparat G, Lipidtropfen L, Vakuole mit membranösem Einschluß V, x 25 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 19: Spätes Stadium einer Glockenzellbildung (Ausschnitt). Die im Schnitt noch vesikuläre Zellplatte ZP hat die Basalwand BW des Antheridiums erreicht. Schwach erkennbare Mikrotubuli Mt verlaufen etwa senkrecht zur Zellplatte. Plastid P mit Protuberanz, von kleinen Granastapeln umgebene osmiophile Globuli O, coated vesicle cv, einzelne Vesikel zwischen Plasmalemma und Wand bei X. x 32 000
- Abb. 20: Längsschnitt durch ein Antheridium. Die basale Wand der Stielzelle S⁺ ist noch vesikulär und verläuft z.T. in einer die Vakuole V durchziehenden Plasmabrücke PB. Glockenzelle GZ, Zentralzelle ZZ. x 4 800

Anemia phyllitidis

- Abb. 21: Telophase in der Spitzenzelle eines Prothalliums. Die Zellplatte ZP verläuft transversal. Kern N. x 4 800
- Abb. 22: Ausschnitt aus der Spitzenzelle des Prothalliums auf Abb. 21 (andere Schnittebene). Kern N, Zellplatte ZP, Vakuole V, Golgiapparate G, Mikrotubuli Mt, Vesikel mit plasmatischem Inhalt VP. x 31 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 23: Spitzenzelle eines Prothalliums in später Prophase. Apikal liegender Kern N mit sich auflösendem Nukleolus Nu und bereits sichtbaren Chromosomen Ch. x 5 800
- Abb. 24: Ausschnitt aus Abb. 23. Kernhülle NE, z.T. schon mit Unterbrechungen, Chromosom Ch, Plastid P. x 36 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 25: Ausschnitt aus Abb. 23. Chromosomen Ch, Nukleolus Nu, Mikrotubuli Mt, Lipidtropfen L, Plastid P, Mitochondrium M, microbody mb. x 41 000
- Abb. 26: Mikrotubuli Mt an der Basalwand BW der Spitzenzelle in später Prophase. x 51 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 27: Metaphase in der Spitzenzelle eines Prothalliums.
Chromosom Ch. x 12 000
- Abb. 28: Anaphase in der Spitzenzelle eines Prothalliums
(Übersicht). Kern N. x 4 800

Anemia phyllitidis

- Abb. 29: Ausschnitt aus Abb. 28. Chromosom Ch, Mikrotubuli Mt,
Polzone PZ, Golgiapparat G, Mitochondrium M, Vesikel
Ve. x 25 000
- Abb. 30: Ausschnitt aus der Spitzenzelle in Anaphase. Chromo-
som Ch, Mikrotubuli Mt, Mitochondrium M, ER, Polzone
PZ. x 32 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 31+32: Ausschnitte aus der Spitzenzelle in Anaphase.
- Abb. 31: Chromosom Ch, Mikrotubuli Mt, Mitochondrium M,
Polzone PZ. x 41 000
- Abb. 32: Vesikel der zukünftigen Zellplatte Ve, Golgiapparat
G, Chromosom Ch, "gebündelte" Mikrotubuli bei Mt.
x 25 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 33: Ausschnitt aus der Spitzenzelle in Anaphase. Basalwand
BW, ER parallel, Plastid P mit Stärke S, Plastoglobuli
O, Chromosom Ch, Kern N, Golgiapparat G, Vakuole V,
Mitochondrium M, kleine Vesikel Vi. x 21 000
- Abb. 34: Übersicht über eine Spitzenzelle in Telophase. Tochter-
kerne N, Zellplatte ZP. x 6 800

Anemia phyllitidis

- Abb. 35: Oberer Tochterkern N der Spitzenzelle in Telophase. Teilweise ausgebildete Kernhülle NE mit Kernporen NP, ER im Kern bei x, Mitochondrium M, Mikrotubuli Mt, Zellplatte ZP, ER, ER und sich bildende Kernhülle bei xx. x 21 000.
- Abb. 36: Ausschnitt aus der Spitzenzelle in Telophase. Zellplatte ZP, zahlreiche, wahrscheinlich die Zellplatte aufbauende Vesikel Vs, basaler Tochterkern N, Verbindung ER - Kernhülle bei x. x 23 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 37: Basaler Tochterkern N aus der Spitzenzelle in Telophase. Sich bildende Kernhülle NE, Golgiapparat G, Mikrotubuli Mt, Mitochondrium M. x 31 000
- Abb. 38: ER in einem Telophasekern der Spitzenzelle. x 41 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 39+40: Ausschnitt aus der Spitzenzelle in Telophase.
- Abb. 39: Gruppe kleiner Vesikel Vi in der Nähe der Basalwand BW, ER in parallelen Strängen entlang der Vakuole V, Kern N, Plastid P, Stärke S, Mitochondrium M, x 21 000
- Abb. 40: Grüppchen kleiner Vesikel Vi sowohl an der Basalwand BW als auch weiter im Zellinneren. Plastid P, Mitochondrium M. x 26 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 41: Ausschnitt aus der Spitzenzelle in Telophase. Zellplatte ZP, Golgiapparat G, multivesikulärer Körper mvb, Mitochondrium M, Plastid P, Stärke S, Vakuole V, Mikrotubuli Mt, x 25 000
- Abb. 42: Ausschnitt aus der basal vom Antheridium liegenden Zelle: Ansammlung von Mikrotubuli Mt an der Außenwand etwa in Höhe der zukünftigen Ansatzstelle der Stielzellwand. Golgiapparat G, ER, Einschlüsse membranöser und plasmatischer Art in der Vakuole V, Tonoplast T, Plasmalemma Pl. x 50 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 43+44: Außenwände der unterhalb der Antheridialzelle liegenden vegetativen Zelle. Mikrotubuli Mt, über eine größere Strecke der Außenwand verteilt. Basalwand BW, Vakuole V, Tonoplast T, Golgiapparat G.
- Abb. 43: ER, Lipidtropfen L. x 23 000
- Abb. 44: Plastid P. x 23 000
- Abb. 45: Ausschnitt aus einem Prothallium: Spitzenzelle in später Telophase, die Zellplatte ZP nähert sich bereits der Basalwand BW. Basale Zelle in später Prophase. Chromosom Ch, Vakuole V mit membranösem Inhalt, Kern N mit Nukleolus Nu. x 8 300

Anemia phyllitidis

- Abb. 46+47: Ausschnitte aus dem Kern der vegetativen Zelle in später Prophase.
- Abb. 46: Chromosom Ch, Plastid P, noch vorhandene Kernhülle NE. x 22 000
- Abb. 47: Mikrotubuli Mt zwischen den Chromosomen Ch. x 32 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 48: Metaphase in der vegetativen Zelle (Übersicht). Zentralzelle ZZ, Chromosom Ch. x 4 800
- Abb. 49: Ausschnitt aus der vegetativen Zelle in Metaphase: Chromosom Ch, Golgiapparat G, Plastid P, Vakuole V, Mikrotubuli Mt. x 21 000

Anemia phyllitidis

- Abb. 50: Telophase in der vegetativen Zelle des Prothalliums (Übersicht): Stielzellbildung. Zukünftige Stielzelle SZ, Zellplatte ZP, Kern N, Plastid P, Vakuole V, Lipidtropfen L in der Spore. x 8 700
- Abb. 51: Stielzellbildung (Ausschnitt). Zukünftige Stielzelle SZ, Glockenzelle GZ, Zentralzelle ZZ, Zellplatte ZP, Plastid P, Vakuole V, Kern N, in Stapeln angeordnetes, ribosomenbesetztes ER, Ribosomen R an der Kernhülle, Lipidtropfen L. Simultan fixiert. x 15 000

Anemia phyllitidis

Abb. 52: Fertig ausgebildetes Antheridium mit Ringzelle RZ, Deckelzelle DZ, Stielzelle SZ. Die Zentralzelle hat sich bereits geteilt. x 4 800

Abb. 53: Beginn der Bildung eines seitlich am Prothallium entstehenden Antheridiums. Kern N, Plastid P, Mitochondrium M, Vakuole V. Simultan fixiert. x 12 000

Anemia phyllitidis

Abb. 54: Plastid mit starker Einschnürung. Vakuole V, Mitochondrium M, Kern N, osmiophile Globuli O. x 36 000

Polypodium crassifolium

Abb. 55: Plastid mit ausgeprägten Granastapeln Gr (aus einer Zentralzelle). Stärke S, Mitochondrium M, Vakuole V. x 28 000

Anemia phyllitidis

Abb. 56: Prolamellarkörper PK in einem Plastiden. Kern N, Kernhülle NE, Mitochondrium M, ribosomenbesetztes ER, Vakuole V. Simultan fixiert. x 23 000

Polypodium crassifolium

Abb. 57: Kristalloid K in einem Plastiden. Mitochondrium M, Plasmalemma Pl. Glutaraldehyd- OsO_4 -Fixierung, ohne Zusatz von CaCl_2 und Saccharose. x 64 000

Anemia phyllitidis

Abb. 58: Spitzenzelle in Telophase (Ausschnitt): Anlage einer transversalen Wand. Parallel angeordnete Elemente des ER unterhalb des unteren Kernes N. Zellplatte ZP, Plastid P, Mitochondrium M, Vakuole V. x 14 000

Abb. 59: Flächig angeschnittener Zellkern N; Kernporen NP in Aufsicht, dazwischen ein Polysom PS. Vakuole V, Tonoplast T. x 26 000 Simultan fixiert.

Anemia phyllitidis

Abb. 60: Polysomen PS. Simultan fixiert. x 36 000

Abb. 61: Ribosomenhelix H. Simultan fixiert. x 56 000

Abb. 62: Ribosomenhelix H. x 41 000

Anemia phyllitidis

Abb. 63: Frühes Stadium einer Glockenzellbildung GZ (Ausschnitt).
Zahlreiche Golgiapparate G liegen in der Nähe der Zellplatte ZP. Mitochondrium M, Plastid P. Simultan fixiert.
x 18 000

Abb. 64: Stielzellbildung SZ (Ausschnitt): Golgiapparat G in
enger Nachbarschaft einer kleinen Vakuole V. Zellplatte ZP, Glockenzelle GZ, Zentralzelle ZZ, microbody mb,
Plastid P, Mitochondrium M. Simultan fixiert. x 32 000

Anemia phyllitidis

Abb. 65: Membranöser Einschuß (bei x) in der entstehenden Glockenzellwand. Basalwand BW, Mikrotubuli Mt, Mitochondrium M, Zentralzelle ZZ. x 50 000

Abb. 66: Plasmaähnlicher Einschuß bei x in der Zellwand. Glockenzelle GZ, Zentralzelle ZZ. x 21 000

Anemia phyllitidis

Abb. 67-69: Vesikel mit plasmatischem Inhalt bei x in der Nähe der Zellwand.

Abb. 67: Zentralzelle ZZ, Glockenzelle GZ. Simultan fixiert.
x 36 000

Abb. 68: Vakuole V mit elektronendichtem Inhalt, Kern N, Nukleolus Nu, Tonoplast T. Simultan fixiert.
x 32 000

Abb. 69: Kern N. x 13 000

Anemia phyllitidis

Abb. 70: Während der Glockenzellbildung auftretende Vesikelgruppe Vi in der Nähe der Basalwand BW. Simultan fixiert. x 64 000

Abb. 71: Eine Abb. 70 entsprechende Vesikelanordnung Vi in einem sukzedan fixierten Antheridium. Basalwand BW, Plasmalemma Pl, ER, Golgiapparat G. x 80 000

Anemia phyllitidis

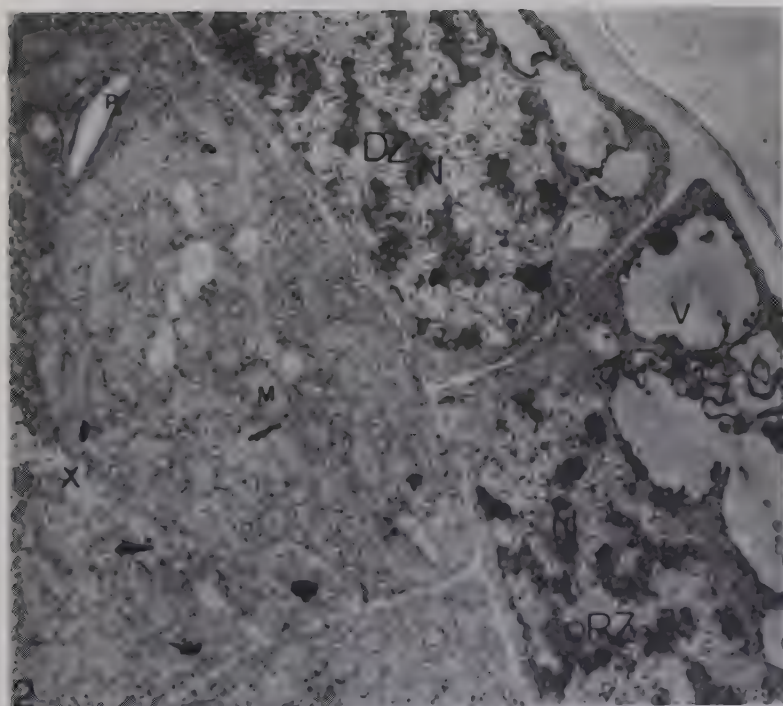
Abb. 72: Plasmodesmos PD aus einem Prothallium. Plasmalemma Pl. Zellwand ZW. (Glutaraldehyd-OsO₄-Fixierung, ohne Zusatz von CaCl₂ und Saccharose). x 120 000

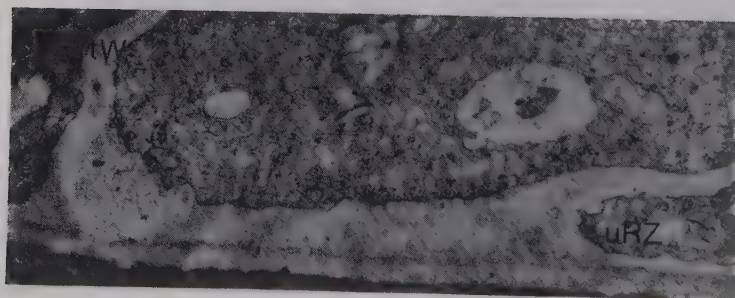
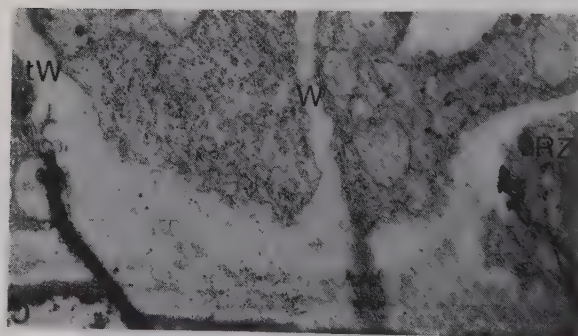
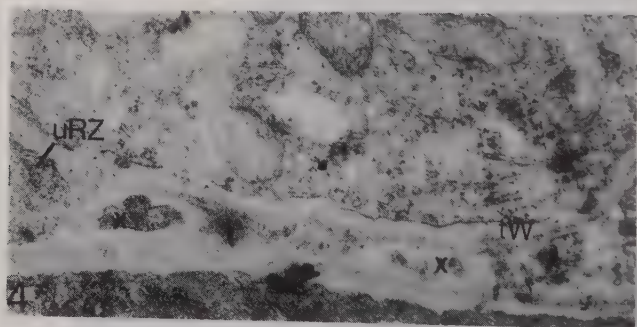
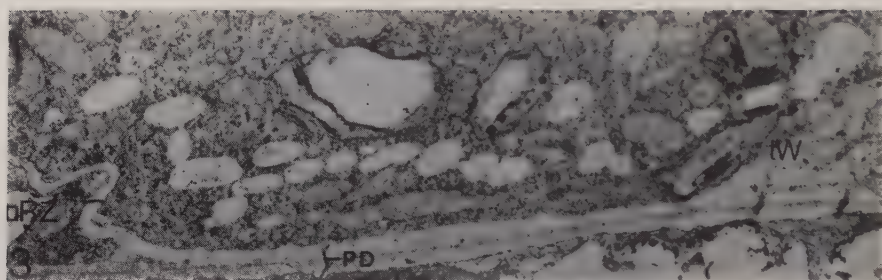
Abb. 73: microbody mb mit einer Stelle größerer Elektronendichte bei x. Vesikulärer Einschluß E. Simultan fixiert. x 80 000

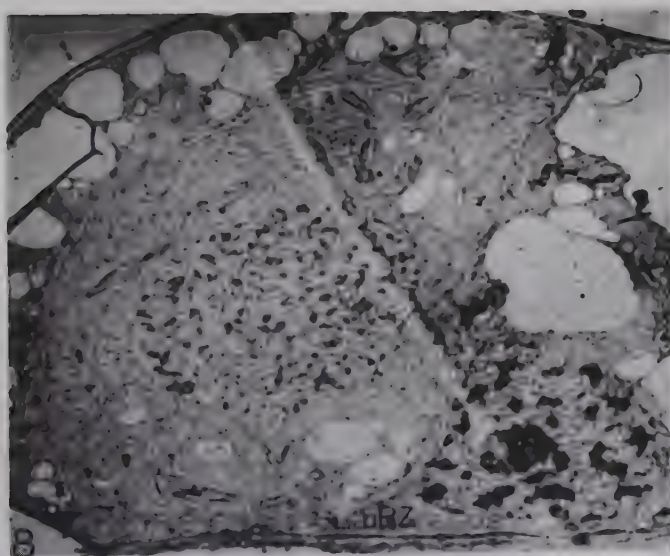
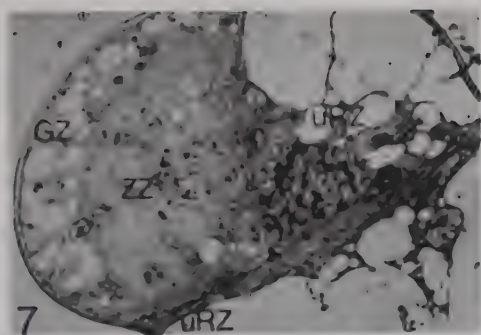
Anemia phyllitidis

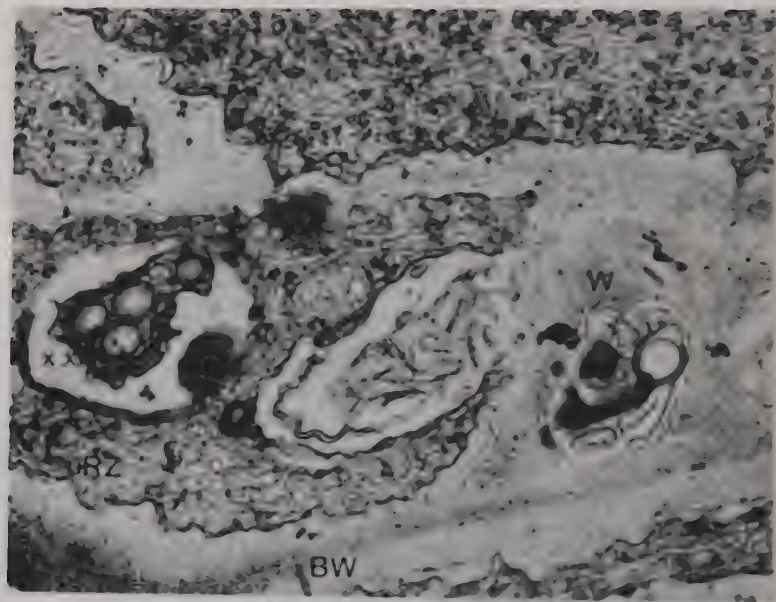
Abb. 74: Spore (Ausschnitt). Lipidtropfen L. Fixierung wie Abb. 72. x 19 000.

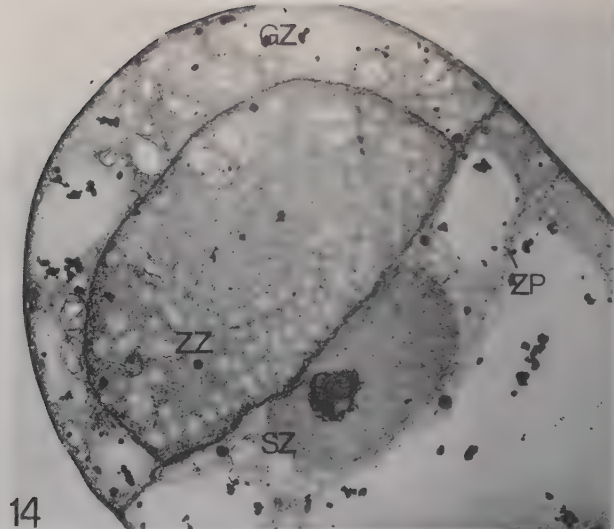
Abb. 75: Spitzenzelle mit bereits etwas apikal verlagertem Kern N. Nukleolus Nu. x 5 800



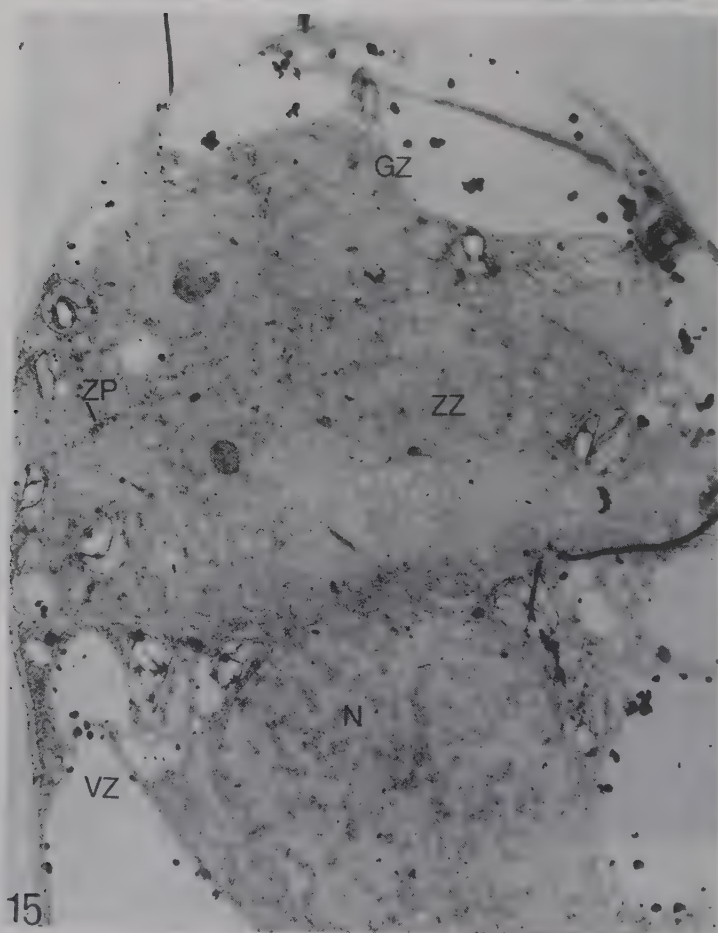




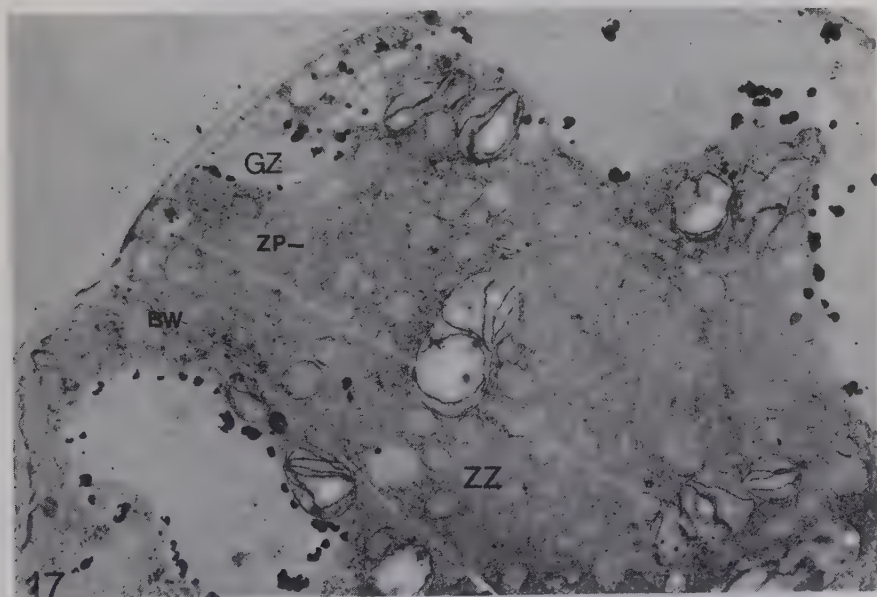
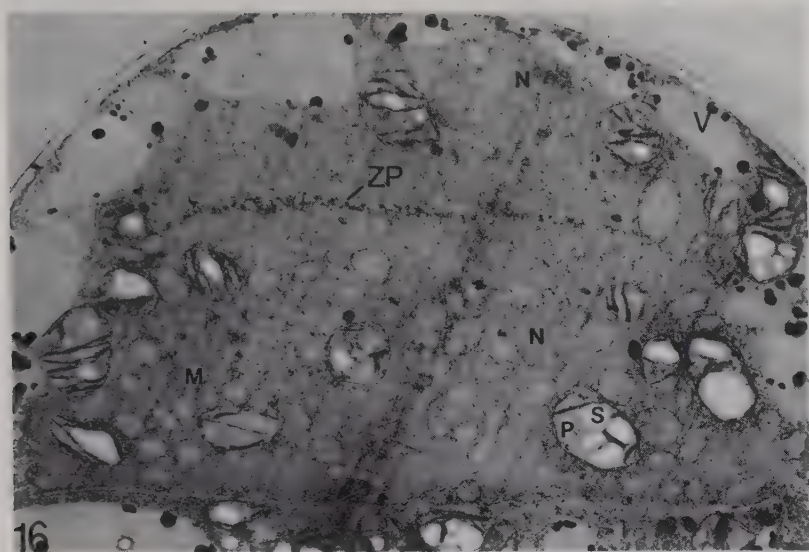


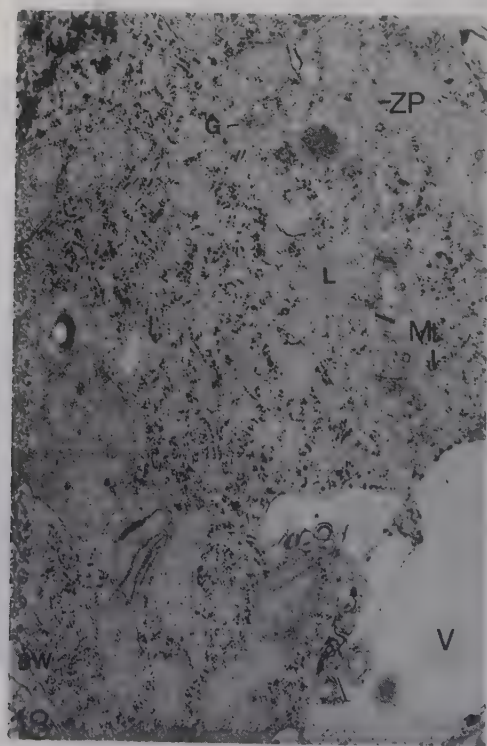
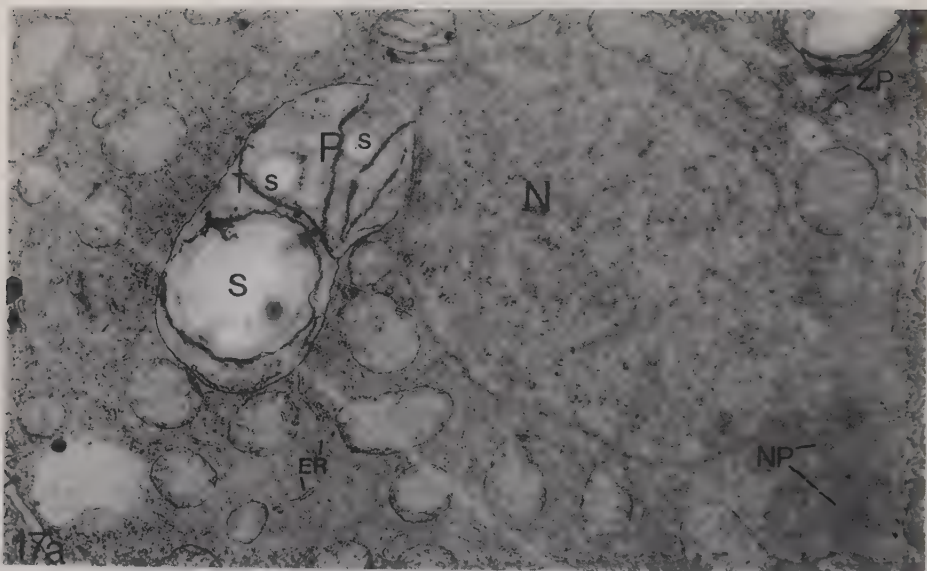


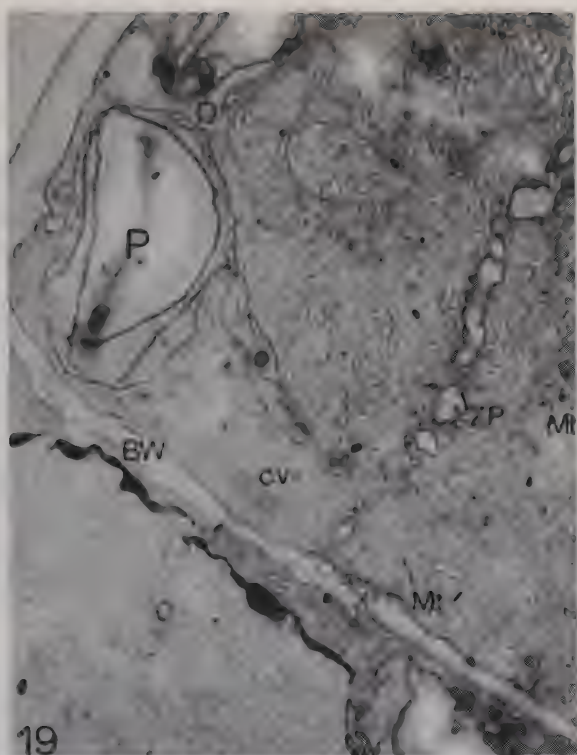
14

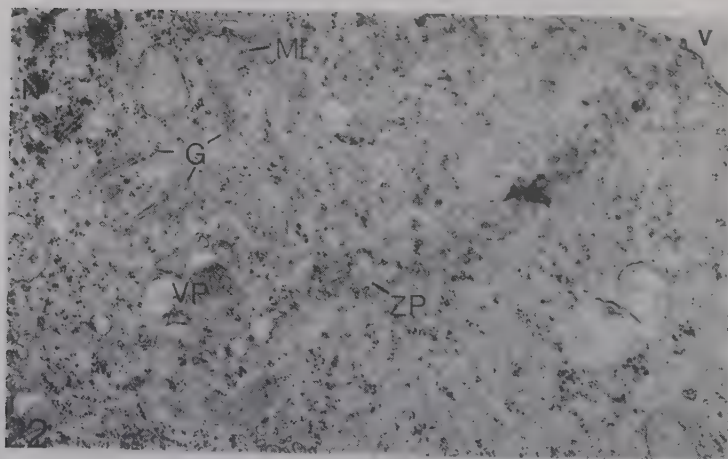
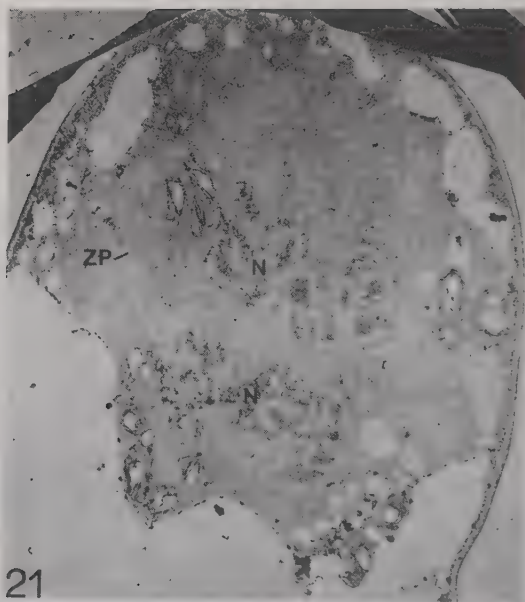


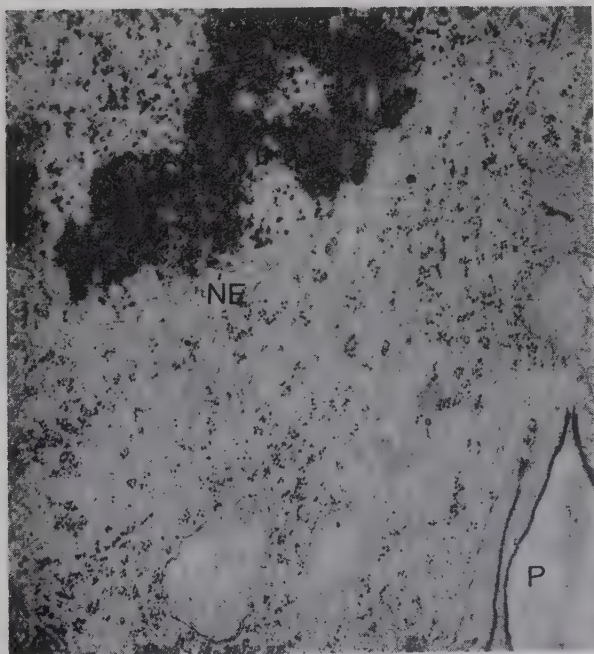
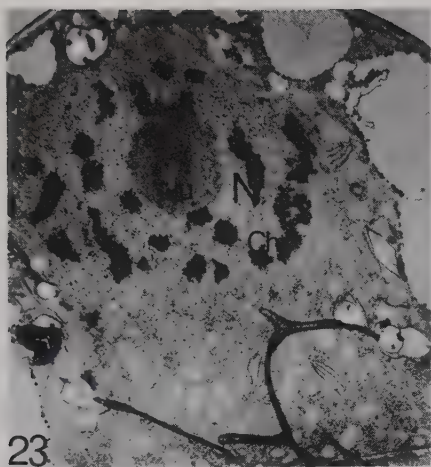
15

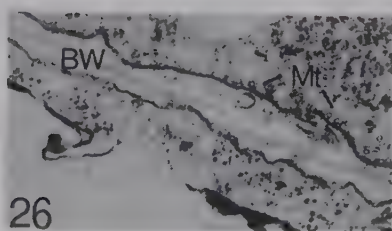
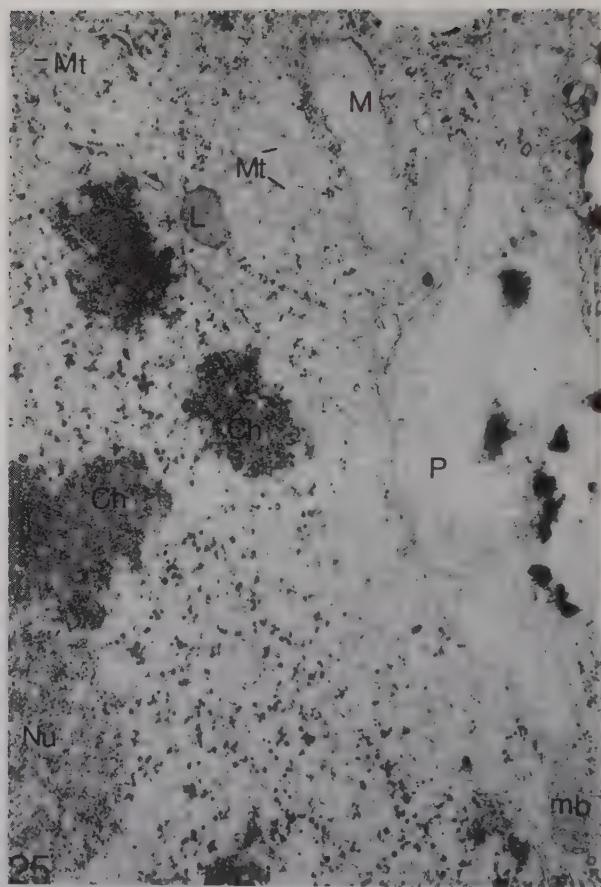


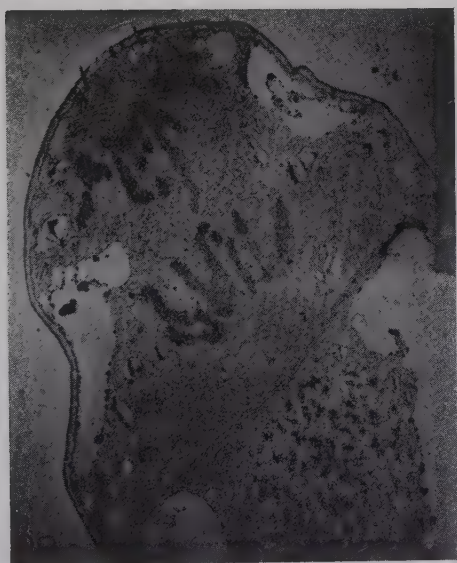
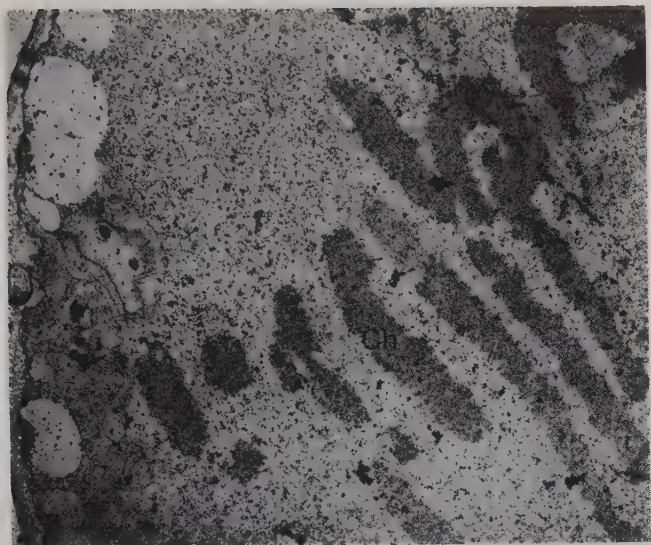


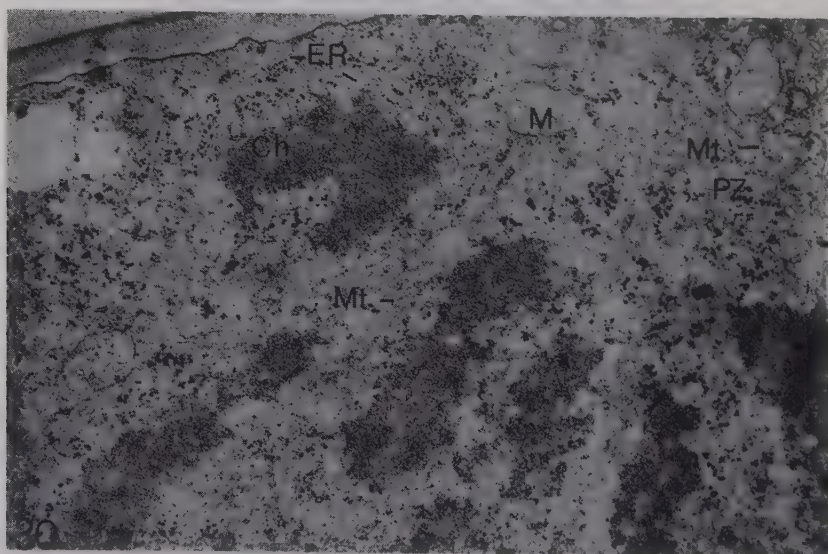


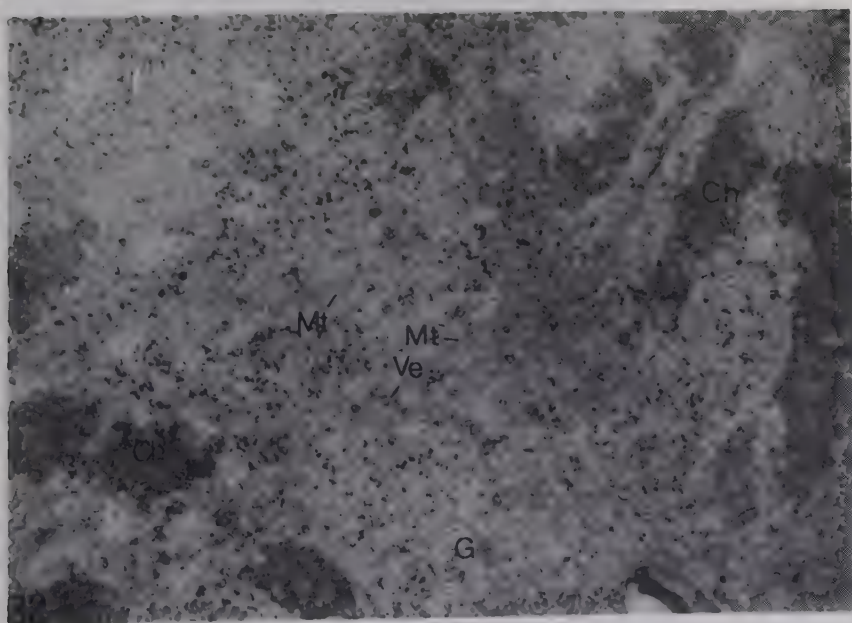
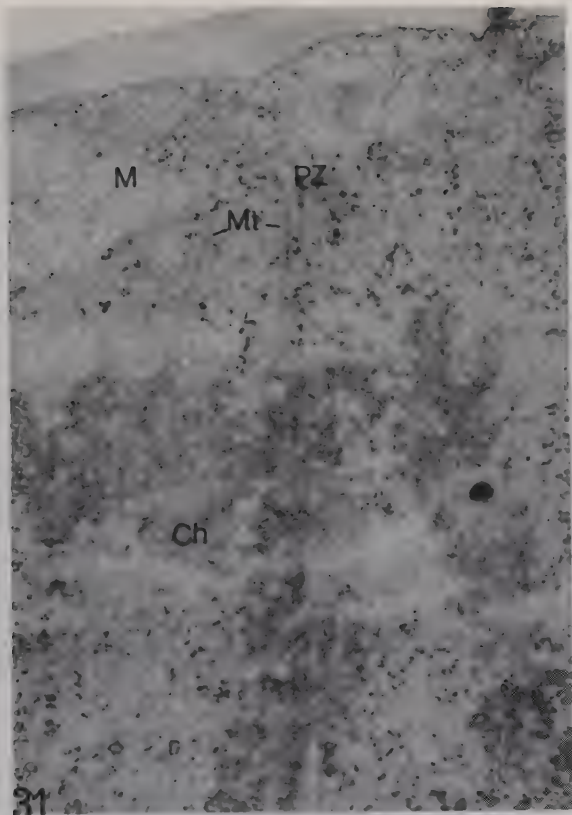


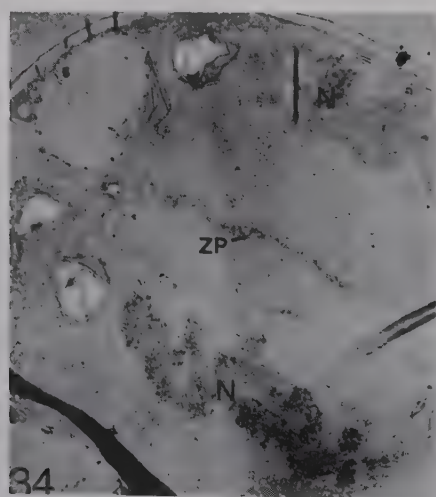
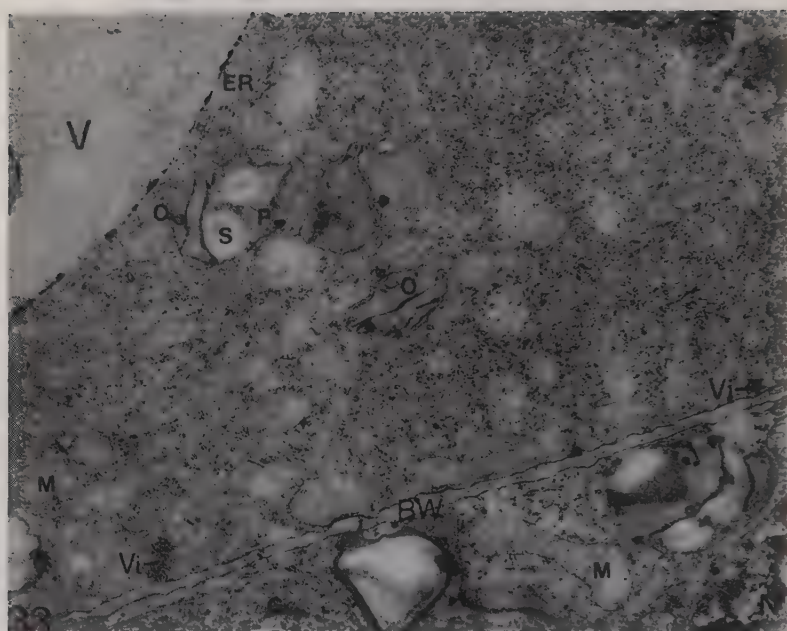


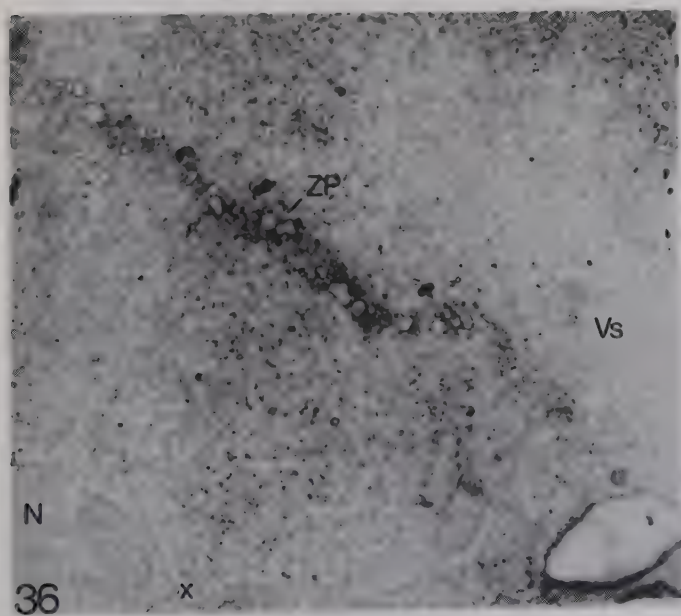
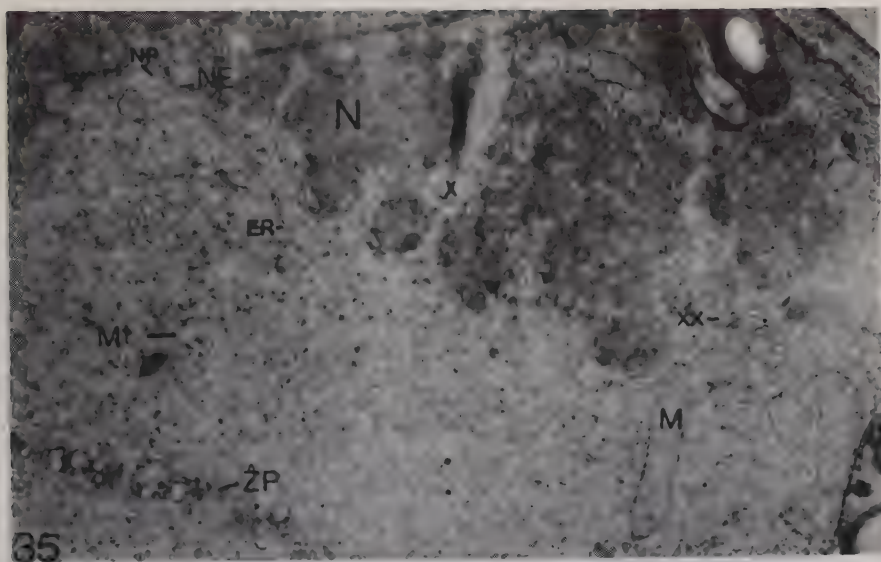


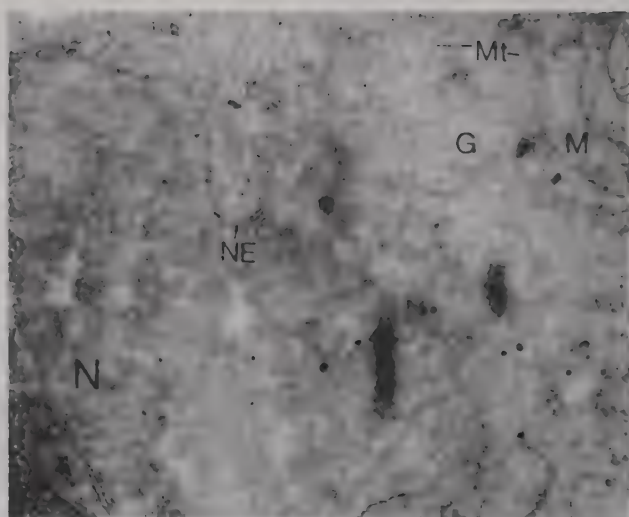


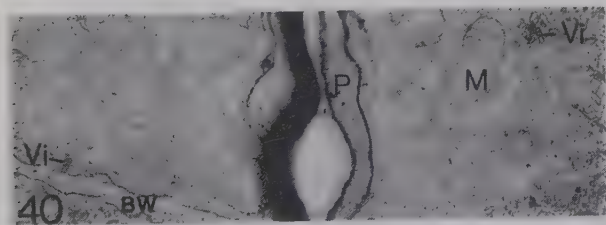
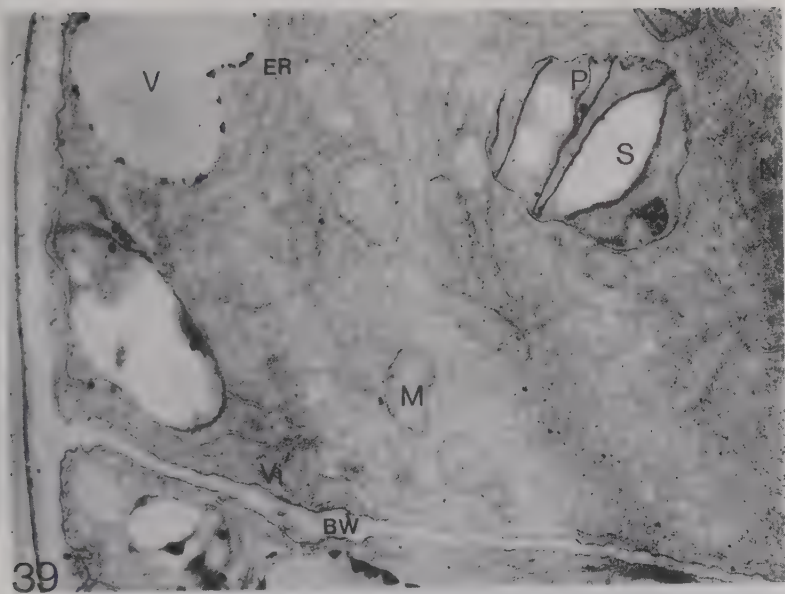


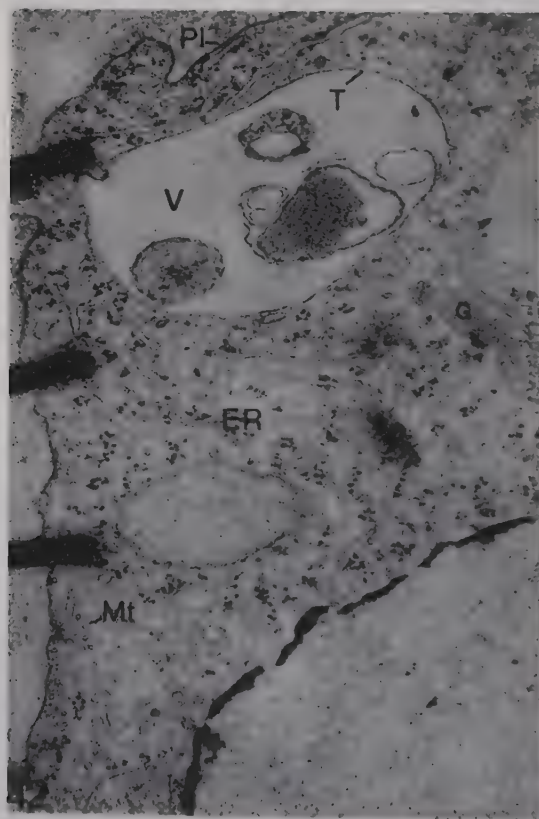
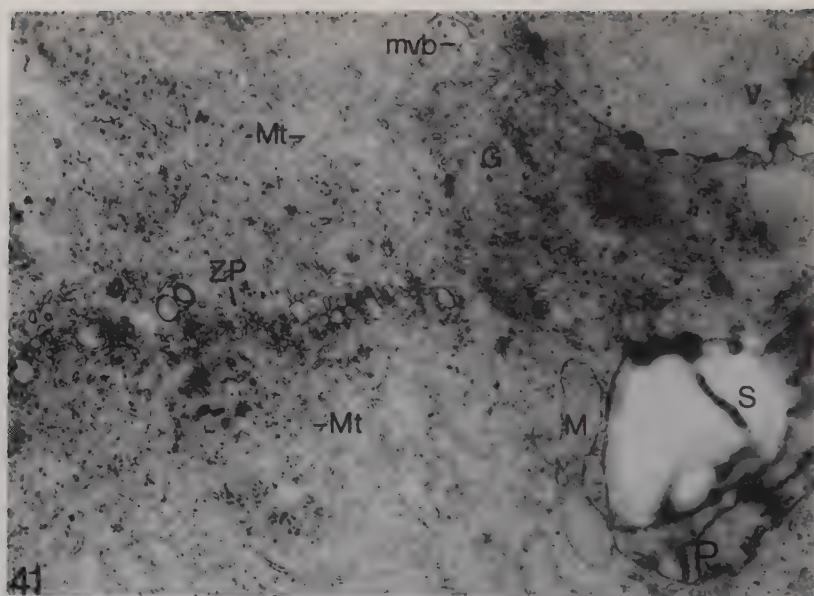


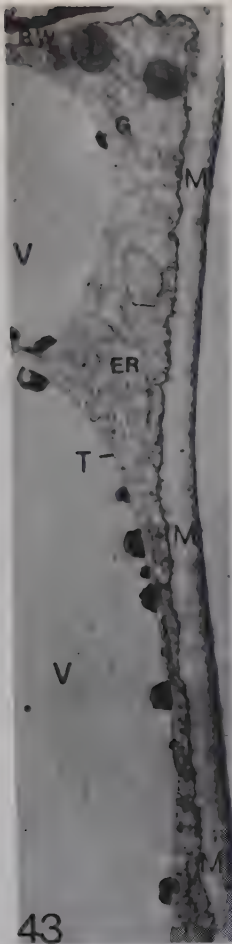




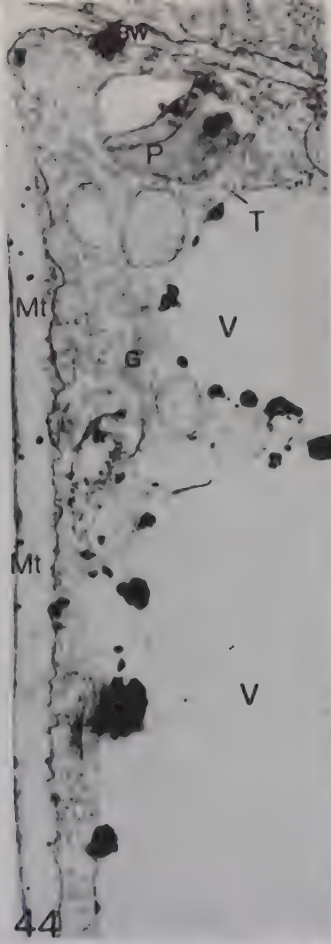




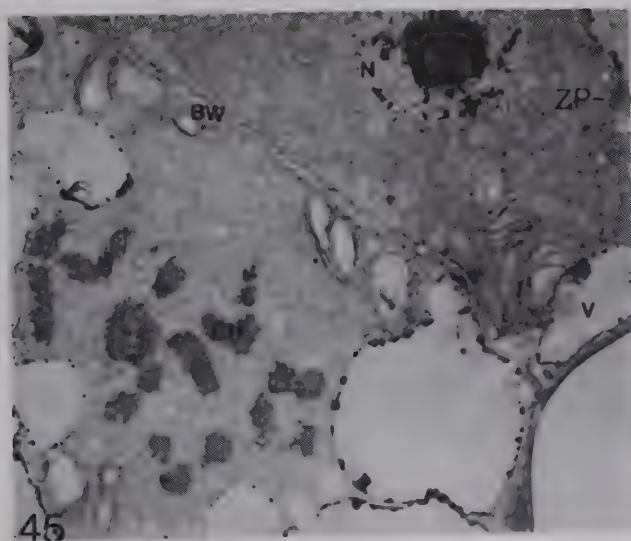




43



44



45

